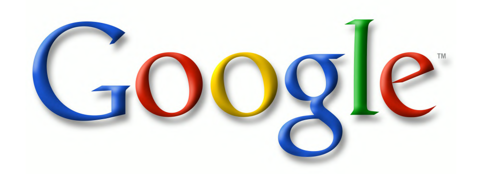
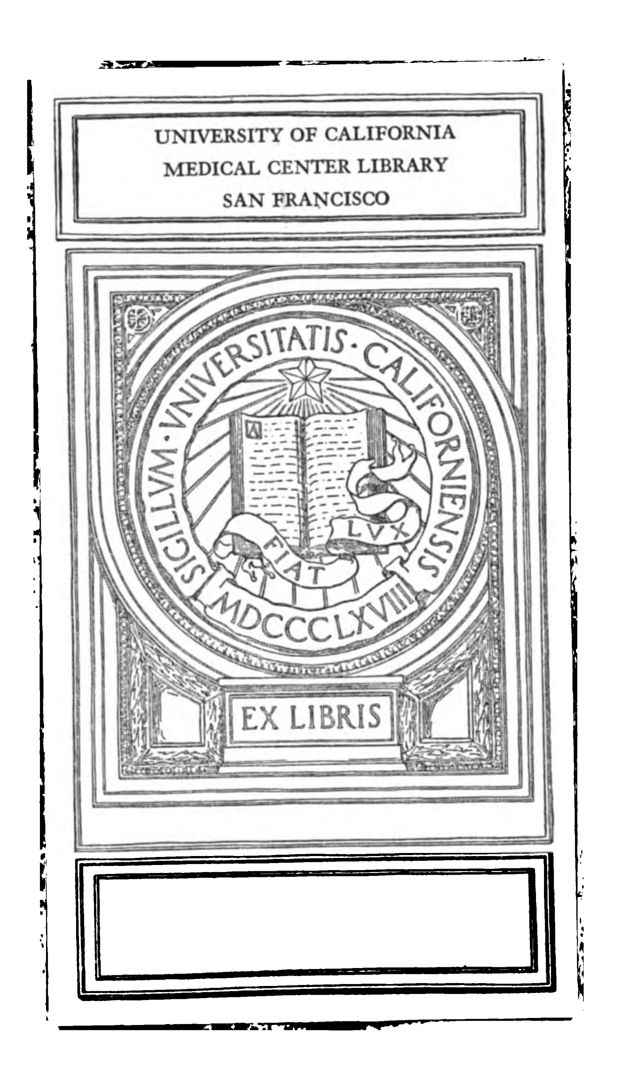



UC-NRLF
B 3 778 049


UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO
SIGILLVM · VNIVERSITATIS · CALIFORNIENSIS
LVX
FIAT
MDCCCLXVIII
EX LIBRIS



Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

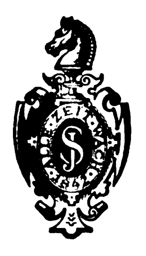
F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundelfter Band



Berlin
Verlag von Julius Springer
1920

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M.
E. Salkowski-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundelfter Band

Erstes bis drittes Heft

Ausgegeben am 9. November 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920

Die **Biochemische Zeitschrift**

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes beträgt M. 48.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,

zu richten.

Die Verfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei, weitere gegen Berechnung. Für den 16 seitigen Druckbogen wird ein Honorar von M. 40.— gezahlt.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

111. Band. **Inhaltsverzeichnis.** 1./3. Heft.

Über den Ort der Doppelbindung bei der Ricinolsäure.

Von

Karl Stosius und Karl Wiesler.

(Aus dem pathologisch-chemischen Laboratorium der Krankenanstalt Rudolfstiftung, Wien.)

(Eingegangen am 31. Juli 1920.)

Wie in einer vorhergehenden Abhandlung[1]) erwähnt, hatten wir bei der Darstellung der — als Ausgangsmaterial für die Elektrosynthese der Tetradekamethylendicarbonsäure benötigten — Azelainsäure aus Ricinusöl Gelegenheit zu einigen bemerkenswerten Beobachtungen, über welche wir hier berichten wollen.

Für die Darstellung der Azelainsäure aus Ricinusöl kamen zwei Methoden in Betracht: die Oxydation des Ricinusöls mit Salpetersäure[2]) oder die Oxydation der Ricinolsäure in alkalischer Lösung mit Kaliumpermanganat nach Maquenne[3]). Mit Rücksicht auf die Ausbeute wählten wir die letztere Methode, nach welcher angeblich die Azelainsäure in einer Menge von 25% der verwendeten Ricinolsäure erhältlich sein soll. Wir erhielten auch ungefähr die angegebene Menge Dicarbonsäure, jedoch erwies sich diese als ein Gemisch fast gleicher Teile Azelainsäure und Korksäure.

Als Ursache für die Bildung der Korksäure neben der Azelainsäure sind drei Möglichkeiten denkbar, nämlich a) daß in der Ricinolsäure zwei Isomere im Gleichgewicht vorhanden sind

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_7 \cdot COOH \rightleftharpoons$$
$$CH_3 \cdot (CH)_2)_5 \cdot CHOH \cdot (CH_2)_2 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_6 \cdot COOH$$

oder b) daß die Korksäure erst durch Oxydation der primär gebildeten Azelainsäure entsteht, oder c) daß das unter a) er-

[1]) Diese Zeitschr. **108**, 75. 1920.
[2]) Arppe, Ann. **120**, 288; **124**, 86.
[3]) Bl. (3) **21**, 1061. 1899.

wähnte Gleichgewicht sich erst in der alkalischen Lösung einstellt. Der Fall a) wird scheinbar durch Behrends Strukturbeweis[1]) ausgeschlossen. Es wird dort für die aus der Ricinolsäure dargestellte Ketooxystearinsäure durch die Beckmannsche Umlagerung des Oxims und Spaltung der Umlagerungsprodukte folgende Formel bewiesen:

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot CH = CH \cdot CO \cdot (CH_2)_7COOH\ .$$

Daraus rückschließend werden folgende zwei Möglichkeiten für die Stelle der Doppelbindung in der Ricinolsäure abgeleitet:

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_7COOH$$

oder

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot (CH_2)_2CH = CH \cdot (CH_2)_6 \cdot COOH\ .$$

Die Wahl zwischen diesen beiden wird nun auf Grund der Tatsache getroffen, daß bei der Oxydation Azelainsäure entsteht; da die zweite Formel dies nicht zu erklären vermag, wird die erste als richtig angenommen. Dieser Schluß ist aber nicht ganz einwandfrei; denn die von Arppe bei der Oxydation des Ricinusöls mit HNO_3 und nun auch in dieser Arbeit bei der Oxydation der Ricinolsäure mit $KMnO_4$ in alkalischer Lösung konstatierte Tatsache, daß neben der Azelainsäure auch Korksäure entsteht, läßt noch die zweite Möglichkeit offen.

Die Entscheidung brachte erst die kürzlich veröffentlichte Arbeit Noorduyns[2]), der für die Ricinolsäure durch Spaltung des Ozonids nach der Methode von Harries die erstgenannte Formel bewies.

Was den Fall b) betrifft, so haben wir auf Azelainsäure in alkalischer Lösung eine Lösung von $KMnO_4$ unter den gleichen Konzentrations- und sonstigen Bedingungen einwirken lassen wie bei der Oxydation der Ricinolsäure, konnten aber im Reaktionsprodukt keine Spur von Korksäure nachweisen. Schmelzpunkt, Titer und Kristallform waren völlig unverändert geblieben. Es kann also die Korksäure nicht durch Weiteroxydation der Azelainsäure entstanden sein. Nach Ausscheidung der beiden anderen Möglichkeiten bleibt nur die unter c) erwähnte Annahme möglich, daß durch die Einwirkung des Alkali die Doppelbindung teilweise um ein C-Atom gegen die Carboxylgruppe

[1]) B. 29, 806. 1896.

[2]) C. 1920, I, 731 (Rec. trav. chim. Pays-Bas 38, 317. 1919).



hin verschoben wird, und zwar wäre dann auf Grund der Mengenverhältnisse der Ausbeuten an Azelainsäure und Korksäure das Gleichgewicht als ziemlich in der Mitte liegend anzunehmen.

Diese Annahme steht in Analogie mit dem Ergebnis der umfassenden Arbeiten Fittigs und seiner Mitarbeiter[1]), durch welche nachgewiesen wurde, daß durch Einwirkung von siedendem Alkali auf $\Delta^{\alpha\beta}$ oder $\Delta^{\beta\gamma}$ ungesättigte einbasische Säuren die Doppelbindung teilweise verschoben wird, und zwar derart, daß immer ein Gleichgewicht zwischen der $\Delta^{\alpha\beta}$- und der $\Delta^{\beta\gamma}$-Säure entsteht; daneben tritt auch Wasseranlagerung unter Bildung der β-Oxysäure ein.

Ähnlich dürfte es sich auch bei der Ricinolsäure verhalten. Bei der Oxydation des Gemisches beider Isomere entsteht dann aus

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot CH_2 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_7 \cdot COOH$$

die Azelainsäure und aus

$$CH_3 \cdot (CH_2)_5 \cdot CHOH \cdot (CH_2)_2 \cdot CH = CH \cdot (CH_2)_6 \cdot COOH$$

die Korksäure.

Fittig hat außer den $\Delta^{\alpha\beta}$ und $\Delta^{\beta\gamma}$ ungesättigten Säuren nur eine $\Delta^{\gamma\delta}$-Säure, die Allylessigsäure[2]) auf ihr Verhalten gegen Alkali untersucht und konstatiert, daß eine Verschiebung der Doppelbindung in der Richtung gegen die Carboxylgruppe nicht eintritt. Dadurch ist aber die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Verschiebung ähnlich wie bei den $\Delta^{\alpha\beta}$-Säuren in der entgegengesetzten Richtung eintritt und wieder ein Isomerenpaar — die $\Delta^{\gamma\delta}$- und die $\Delta^{\delta\varepsilon}$-Säure — liefert. Übergeht man dann das folgende Paar — die $\Delta^{\varepsilon\zeta}$- und die $\Delta^{\zeta\eta}$-Säure, über welche keine Beobachtungen vorliegen —, so kommt man zu dem Isomerenpaar der $\Delta^{\eta\vartheta}$- und der $\Delta^{\vartheta\iota}$-Säure, zu welcher Gruppe der Fall der Ricinolsäure in Analogie stünde.

Diese Analogie wird durch folgendes Schema übersichtlich gemacht, in welchem je drei zusammengehörige Kohlenstoffatome — entsprechend je zwei isomeren ungesättigten Säuren — durch eine Klammer verbunden sind:

```
  α   β   γ   δ   ε   ζ   η   ϑ   ι
  |   |   |   |   |   |   |   |   |
— C — C — C — C — C — C — C — C — C —
  |   |   |   |   |   |   |   |   |
  \___^___/\__^___/\__^___/\__^___/
```

1) B. 24, 82. 1891; 26, 40. 1893; 27, 2676. 1894.

2) B. 27, 2676. 1894.

Die Analogie erstreckt sich auch auf die Tatsache, daß die aus der Ricinolsäure dargestellte Ricinstearolsäure — für welche ebenfalls die Möglichkeit von zwei Isomeren denkbar ist — durch Wasseranlagerung immer zur δ-Ketooxystearinsäure führt, ebenso wie durch Wasseranlagerung an die $\Delta^{\alpha\beta}$- oder die $\Delta^{\beta\gamma}$-Säure immer die β-Oxysäure entsteht, der Sauerstoff also an das mittelständige C-Atom tritt.

Die Annahme einer teilweisen Verschiebung der Doppelbindung in der Ricinolsäure durch Einwirkung der siedenden Kalilauge vermag also das Auftreten der Korksäure neben der Azelainsäure zu erklären und wird durch die Analogie mit Fittigs Arbeiten gerechtfertigt, wäre jedoch wohl noch durch einen direkteren Beweis zu bekräftigen.

Experimenteller Teil.

Darstellung der Ricinolsäure.

Die Verseifung der Ricinolsäure geschah mit überschüssiger alkoholischer Natronlauge. 150 g Ricinusöl wurden mit 240 ccm einer 4 normalen alkoholischen Natronlauge eine halbe Stunde lang auf dem Wasserbade erwärmt und dann einige Minuten gekocht. Hierauf wurde die Lösung mit dem gleichen Volumen heißen Wassers verdünnt und mit verd. Schwefelsäure angesäuert. Die Ricinolsäure schied sich als unlösliches Öl an der Oberfläche ab. Sie wurde mit heißem Wasser gewaschen und bei 100° getrocknet. Die Ausbeute betrug 135 g Ricinolsäure, d. i. 90% vom Gewichte des Ricinusöls.

Oxydation der Ricinolsäure nach Maquenne.

Diese rohe Ricinolsäure wurde der Oxydation unterworfen. 30 g Ricinolsäure wurden mit 200 ccm einer 40 proz. Kalilauge versetzt und mäßig gekocht. Die zähflüssige Seife wurde auf einmal in einen 2 l fassenden Kolben gegossen, der 75 g $KMnO_4$ in 1 l lauwarmem Wasser enthielt. Als kein festes $KMnO_4$ mehr am Boden des Kolbens vorhanden war, wurde noch eine halbe Stunde auf dem Wasserbade erwärmt. Nun wurde mit heißer 1 : 3 verdünnter Schwefelsäure (90 g H_2SO_4) bis eben zur sauren Reaktion versetzt, und zwar in ganz kleinen Portionen, da die Mischung sich dabei stark erhitzte und infolge der Entwicklung von CO_2 aufschäumte. Dabei wurde der äußerst charakteristische Geruch des Önanthols beobachtet, der aber später wieder verschwand.

Nach Beendigung der Reaktion wurde die heiße Flüssigkeit filtriert, der Rückstand auf dem Filter gründlich mit heißem Wasser gewaschen und schließlich noch mit Wasser ausgekocht, da er viel organische Substanz hartnäckig festhält.

Die vereinigten Filtrate wurden auf 500 ccm eingeengt. Nach dem Abkühlen trat reichliche Kristallisation ein, welche aber nur aus anorga-

nischer Substanz — K_2SO_4 — bestand. Auch bei öfterer Wiederholung gelang es nie, nach der Oxydation von je 30 g Ricinolsäure durch Einengen des Filtrats auf 500 ccm eine Kristallisation von Azelainsäure zu erhalten. Immer kristallisierte anorganische Substanz aus. Nach der Angabe Maquennes aber sollte man hier eine reichliche Kristallisation von Azelainsäure, die nach zweimaligem Umkristallisieren völlig rein ist, in einer Ausbeute von 25% des Gewichtes der Ricinolsäure erhalten. Dies ist bei den angegebenen Mengenverhältnissen nicht der Fall.

Man erhält jedoch eine Kristallisation von organischer Substanz, wenn man die Lösung statt auf 500 ccm nur auf ca. 800 ccm einengt und abkühlen läßt. Diese Kristalle wurden aus heißem Wasser zweimal umkristallisiert. Der Schmelzpunkt war aber auch dann nur 103°; doch hatten die Kristalle die für die Azelainsäure charakteristische Form vierseitiger Tafeln. Die Ausbeute betrug 10% des Gewichts der Ricinolsäure.

Nach Abscheidung dieser organischen Kristallisation enthielt aber die Mutterlauge neben großen Mengen anorganischen Salzes noch organische Substanz, welche durch Ausäthern der Lösung in einer Menge von nochmals ca. 10% des Gewichtes der Ricinolsäure gewonnen wurde. Beim Umkristallisieren dieses Produktes aus Wasser stieg der Schmelzpunkt schließlich bis 115°, war aber auch dann noch unscharf.

Um einen Anhaltspunkt zu gewinnen, wurde diese Substanz analysiert. Die Titration mit $^n/_{10}$-Natronlauge ergab:

		Berechnet für $(CH_2)_7(COOH)_2$	für $(CH_2)_6(COOH)_2$
0,1331 g Subst. verbrauchten	14,85 ccm	14,17	15,29
0,1323 g „ „	14,78 ccm	14,08	15,21

Die Werte waren also für Azelainsäure zu hoch und deuteten darauf hin, daß neben Azelainsäure noch eine andere Säure mit kleinerem Molekulargewicht vorhanden war.

Ein ähnliches Resultat lieferte die Verbrennung:

3,463 mg Subst. gaben 7,105 mg CO_2 und 2,597 mg H_2O.

In 100 Teilen		Berechnet für $(CH_2)_7(COOH)_2$	für $(CH_2)_6(COOH)_2$
C	55,97	57,45	55,17
H	8,39	8,51	8,04

Auch die Kristallform war von jener der Azelainsäure ganz verschieden und bestand in zarten büschelförmig angeordneten Nadeln.

Diese Beobachtungen entsprachen ganz der von Laurent[1]), Arppe[2]) u. a. bei der Oxydation von Ölsäure, Ricinusöl und anderen Fetten mit Salpetersäure bemerkten Tatsache, daß Azelainsäure und Korksäure nebeneinander entstehen. Es war also naheliegend, auch hier anzunehmen, daß ein Gemisch dieser beiden Säuren vorlag. Diese Annahme entsprach auch

---

1) Ann. **28**, 258.

2) Ann. **120**, 288.

den obigen Analysenresultaten, wenn man diese mit den danebengestellten Werten für Korksäure und Azelainsäure verglich.

Zur Isolierung beider homologer Säuren wurde die Methode der fraktionierten Trennung verwendet, welche auf der Verschiedenheit ihres elektrolytischen Dissoziationsgrades beruht.

2,14 g des Säuregemisches wurden in Wasser gelöst und mit Natronlauge eben neutralisiert. Zur Lösung wurde dann nacheinander je $^1/_4$ der aus obiger Titration berechneten Säuremenge, d. i. je 60 ccm einer $^n/_4$-Salzsäure, zugefügt. Nach jedem Säurezusatz wurde mit Äther die gebildete freie Säure extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers wurde jede der vier Fraktionen aus Wasser umkristallisiert. Die erste Fraktion war Azelainsäure, die nach einmaligem Umkristallisieren vollkommen rein war; Schmelzp. 106°. Die zweite und die dritte Fraktion waren wieder Gemische, die vierte aber hatte den Schmelzp. 138°, der durch Umkristallisieren auf 140°, den Schmelzpunkt der Korksäure, stieg. Von jeder Fraktion wurde eine gewogene Menge mit $^n/_{10}$-Natronlauge titriert und das Resultat auf 0,1 g Substanz umgerechnet, um vergleichbare Werte zu erhalten.

1. Fraktion:	0,1067 g	Substanz	verbrauchten	11,40 ccm
oder	0,1 g	„	„	10,69 „
2. Fraktion:	0,1089 g	„	„	11,85 „
oder	0,1 g	„	„	10,88 „
3. Fraktion:	0,1028 g	„	„	11,55 „
oder	0,1 g	„	„	11,23 „
4. Fraktion:	0,1058 g	„	„	12,13 „
	0,1030 g	„	„	11,80 „
oder	0,1 g	„	„	11,47 „

Die Verbrennungen ergaben:

1. Fraktion:	3,268 mg Substanz gaben	6,879 mg CO_2	57,41%	C
	und	2,481 mg H_2O	8,50%	H
2. Fraktion:	3,488 mg Substanz gaben	7,266 mg CO_2	56,83%	C
	und	2,601 mg H_2O	8,34%	H
3. Fraktion:	3,916 mg Substanz gaben	8,034 mg CO_2	55,97%	C
	und	2,904 mg H_2O	8,30%	H
4. Fraktion:	3,177 mg Substanz gaben	6,452 mg CO_2	55,40%	C
	und	2,354 mg H_2O	8,29%	H

Diese Analysenresultate sind zum Vergleiche mit dem für Azelainsäure und Korksäure berechneten Werten in folgender Tabelle zusammengestellt:

	0,1 g Substanz verbrauchen ccm	Prozentgehalt an C	H
Berechnet für Azelainsäure	10,64	57,45	8,51
Gefunden bei Fraktion 1	10,69	57,41	8,50
„ „ „ 2	10,88	56,83	8,34
„ „ „ 3	11,23	55,97	8,30
„ „ „ 4	11,47	55,40	8,29
Berechnet für Korksäure	11,50	55,17	8,04

Damit war also erwiesen, daß bei der Oxydation der Ricinolsäure in alkalischer Lösung mit $KMnO_4$ Azelainsäure und Korksäure nebeneinander entstehen. Was die Ausbeute betrifft, so betrug das Gesamtgewicht der gewonnenen organischen Substanz ca. 20% des Gewichtes der Ricinolsäure; davon entfielen ca. 12% auf Azelainsäure und ca. 8% auf Korksäure.

Die Elementaranalysen wurden nach Pregls mikroanalytischer Methode durchgeführt.

Über die quantitative Bestimmung von Aceton und Aldehyd in ein und derselben Flüssigkeit.

Von

Wilhelm Stepp und **Wilhelm Engelhardt.**

(Aus der Medizinischen Klinik zu Gießen [Prof. Voit].)

(Eingegangen am 29. Juli 1920.)

In einer vor kurzem in dieser Zeitschrift erschienenen Mitteilung hatte der eine von uns (Stepp) über den Befund von aldehydartigen Substanzen im Blute von Diabetikern berichtet[1]). Als wir nun gemeinschaftlich daran gingen, die quantitativen Verhältnisse zu studieren, stießen wir sehr bald auf Schwierigkeiten. In den Fällen, wo das Blut aldehydartige Substanzen enthielt, war nämlich gleichzeitig auch stets Aceton zugegen, dessen Anwesenheit sich bei der Aldehydbestimmung störend bemerkbar machte. Umgekehrt störte bei dem für die Bestimmung des Acetons gewöhnlich benutzten Verfahren die Gegenwart von aldehydartigen Körpern; wir werden diese Verhältnisse im folgenden ganz kurz besprechen.

Für die quantitative Ermittlung des Acetons ist das von Messinger-Huppert angegebene Verfahren in der Art, wie es Embden und Schmitz[2]) ausführen, ganz vortrefflich geeignet; es gibt, wenn man sich an die gegebenen Vorschriften hält, sehr genaue Werte.

Ebenso geeignet wie das Messinger-Huppertsche Verfahren für die Ermittlung des Acetons ist für die Bestimmung der Aldehyde (die von Ripper angegebene Methode[3]) der Bindung an Bisulfit; auch hier ist die Genauigkeit sehr groß.

Nun reagieren aber bei der Ausführung des Messinger-Huppertschen Verfahrens neben dem Aceton auch die gleichzeitig vorhandenen Aldehyde

---

[1]) W. Stepp, diese Zeitschr., **107**, 60. 1920.

[2]) Embden u. Schmitz im Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden Bd. III, 2, S. 913 und 915. 1910.

[3]) Max Ripper, Sitzungsber. d. Akademie d. Wissenschaften, mathem.-naturw. Klasse, Abt. 2b **108—109**, 844. 1899—1900.

mit Jod und Alkali unter Jodoformbildung und umgekehrt wird bei der Ripperschen Methode nicht nur Aldehyd, sondern auch vorhandenes Aceton angelagert.

Dem Messinger-Huppertschen Verfahren liegen die folgenden Gleichungen zugrunde:

$$\text{I. } 2\,NaOH + J_2 = NaOJ + NaJ + H_2O\,.$$
$$\text{II. } CH_3COCH_3 + 3\,NaOJ = CJ_3H + CH_3COONa + 2\,NaOH\,.$$

Wie aus Gleichung II hervorgeht, verbraucht 1 Molekül Aceton 3 Moleküle Natriumhypojodit. Nach Gleichung I sind zur Bildung von 1 Molekül Natriumhypojodit 2 Atome Jod nötig, so daß schließlich 1 Molekül Aceton 6 Atome Jod erfordert. Beim Arbeiten mit $^{n}/_{10}$-Jodlösung entspricht somit jedem für die Jodoformbildung verbrauchten Kubikzentimeter Jodlösung $^{1}/_{6}$ ccm $^{n}/_{10}$-Acetonlösung. Man erhält so in Zahlen ausgedrückt, da das Molekulargewicht des Acetons 58 beträgt, für jeden Kubikzentimeter Jodlösung $\frac{0{,}0058}{6} = 0{,}0009666\ldots$ g Aceton oder, wie man gewöhnlich zu schreiben pflegt, 0,967 mg.

Bei der Aldehydbindung an Jod handelt es sich um den gleichen chemischen Vorgang. Die Gleichung lautet hier:

$$CH_3CHO + 3\,NaOJ = CJ_3H + HCOONa + 2\,NaOH\,.$$

Also auch hier werden für 1 Molekül Aldehyd 3 Moleküle Natriumhypojodid gebraucht, zu deren Bildung 6 Atome Jod nötig waren, nur daß hier an Stelle von Essigsäure Ameisensäure entsteht. Die Berechnung gestaltet sich analog der beim Aceton. 1 ccm zur Jodoformbildung verbrauchter Jodlösung entspricht $^{1}/_{6}$ ccm $^{n}/_{10}$-Aldehydlösung oder $\frac{0{,}0044}{6} = 0{,}00073$ g Aldehyd, da das Molekulargewicht des Aldehyds 44 beträgt.

Man könnte nach dem, was hier auseinandergesetzt wurde, erwarten, daß die Bestimmung des Aldehyds mittels der Jodoformbildungsmethode ebenso leicht und elegant durchzuführen wäre, wie die des Acetons. Diese Erwartung hat sich nach den Untersuchungen von Boas, Jerusalem, besonders aber nach den eingehenden Studien von O. v. Fürth und D. Charnass[1]) nicht bestätigt. Je nach der Verdünnung des Aldehyds findet man nur einen verschieden großen Anteil der theoretisch geforderten Menge (etwa zwischen 32 und 79%); die Methode ist also in der gewöhnlichen Form nicht brauchbar. Nun haben Fürth und Charnass ganz bestimmte Bedingungen herausgefunden, bei deren Einhaltung es gelingt, richtige Werte zu bekommen. Diese Bedingungen sind: Hochgradige Verdünnung der Aldehydlösung, Zusatz der Jodlösung in kleinen Portionen zu der stark alkalischen Lösung, Einhaltung einer niedrigen Temperatur während des ganzen Prozesses[2]).

Man könnte also für die Zwecke der gleichzeitigen Bestimmung von Aceton und Aldehyd nebeneinander nach Messinger-Huppert zuerst

---

[1]) O. v. Fürth und Charnass, diese Zeitschr. 26, 199. 1910.

[2]) Näheres siehe in der Arbeit von Fürth und Charnass, l. c.

die gesamte Jodbindung feststellen, indem man die von Fürth und Charnass angegebenen Bedingungen einhält, dann durch Kochen mit Silberoxyd am Rückflußkühler in der von Embden-Masuda[1]) angegebenen Weise die Aldehyde zerstören und dann wiederum die Jodbindung feststellen. Es würde sich dann die noch verbleibende Jodbindung als Aceton, die Differenz zwischen Gesamt- und Rest-Jodbindung als Aldehyd berechnen.

Nun sagen aber Fürth und Charnass ausdrücklich, daß die Jodoformbindungsmethode für die Ermittlung der Aldehyde in ihren Leistungen hinter dem Ripperschen Verfahren weit zurückbleibe, das, wie wir bereits in der Einleitung betonten, das gegebene Verfahren für die Aldehydbestimmung ist. Es fragt sich also, ob und inwieweit die Rippersche Methode brauchbar ist, wenn es gilt, gleichzeitig vorhandenes Aceton quantitativ mit zu erfassen. Die Addition von Aceton an Bisulfit vollzieht sich im Prinzip genau so wie die von Aldehyd, wie aus den folgenden Gleichungen hervorgeht:

$$\text{I. } CH_3CHO + SO_3HNa = CH_3 \cdot CH(OH) \cdot OSO_2Na$$
$$\text{II. } CH_3COCH_3 + SO_3HNa = (CH_3)_2 \cdot C(OH) \cdot O \cdot SO_2Na$$

Von diesem Gesichtspunkt aus hat A. Jolles[2]) das Bisulfitverfahren zur quantitativen Acetonbestimmung empfohlen. Wie aus den Formeln hervorgeht, verbrauchen sowohl 1 Molekül Aldehyd wie 1 Molekül Aceton je 1 Molekül Bisulfit. Da nun 1 Molekül Bisulfit zur Oxydation 2 Atome Jod verbraucht nach der Gleichung:

$$SO_2 + J_2 + 2\,H_2O = H_2SO_4 + 2\,HJ,$$

so entspricht 1 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung $^1/_2$ ccm $^n/_{10}$-Aldehyd bzw. $^n/_{10}$-Aceton. Da das Molekulargewicht des Acetaldehyds 44, das des Acetons 58 ist, so zeigt 1 ccm Jodlösung $\frac{0{,}0044}{2} = 0{,}0022$ g Aldehyd und $\frac{0{,}0058}{2} = 0{,}0029$ g Aceton an.

Eine Schwierigkeit stand indessen der praktischen Verwertung der Ripperschen Methode für die Acetonbestimmung im Wege, nämlich die Tatsache, daß das Aceton in verdünnten Lösungen nur sehr langsam und träge mit dem Bisulfit reagiert. Nach den Untersuchungen von Jolles muß man das Reaktionsgemisch wenigstens 30 Stunden stehenlassen, wenn man sicher sein will, daß alles Aceton gebunden ist. Das ist natürlich sehr umständlich, und ein weiterer Nachteil ist die leichte Veränderlichkeit des Titers der Bisulfitlösung, die es notwendig macht, stets eine Kontrolle anzustellen, die die Titerabnahme angibt.

Bei dieser Lage der Dinge schien es uns erwünscht, in einer größeren Zahl von Versuchen in Gemengen von reinen Aceton- und Aldehydlösungen die beiden Körper quantitativ sowohl mit der Jodoformmethode wie mit der Bisulfitmethode zu bestimmen. Die verwendeten Präparate stammten von der Firma

[1]) Diese Zeitschr. **45**, 140. 1912.

[2]) Chem. Ber. **39**, 1306. 1906.

Kahlbaum; der Acetaldehyd trug die Bezeichnung „Acetaldehyd konz. (ca. 95%)".

Es kam uns hierbei nicht darauf an, mit absolut reinen Präparaten zu arbeiten, sondern wir stellten uns wäßrige Lösungen her, deren Gehalt wir beim Aceton mit dem Messinger-Huppertschen und beim Acetaldehyd mit dem Ripperschen Verfahren bestimmten. Aus den Lösungen wurden dann die Gemische bereitet, die wir zu den Versuchen verwandten.

Wir haben zunächst stark verdünnte Acetonlösungen vergleichend nach Messinger-Huppert und nach Ripper untersucht. Die Tabelle I gibt eine Übersicht über eine solche Versuchsreihe, bei der eine etwa 0,1 proz. Lösung verwendet worden war.

Tabelle I.

Bestimmung von Aceton in reinen Lösungen.

Rippersches Verfahren (in der Ausführung nach Ad. Jolles)							Messinger-Huppertsches Verfahren
Menge d. Acetonlösung ccm	Vorgelegtes n/5-Bisulfit ccm	Titer des vorgelegten Bisulfits, ausgedrückt in ccm n/10-Jodlösg.		Titer d. Bisulfits nach Acetonbindung in ccm n/10-Jodlösg.	An Aceton geb. Bisulfitmenge entspr. einer n/10-Jodlösg. ccm	Acetonmenge in mgr	Acetonmenge in mgr
		vor dem Versuch	nach 30 stg. Stehen				
0,5	3	4,8	4,75	4,5	0,25	**0,725**	**0,735**
1	10	16,2	16,1	15,65	0,45	**1,3**	**1,12**
2	10	16,2	16,1	15,25	0,85	**2,47**	**2,19**
4	10	16,2	16,1	14,45	1,65	**4,79**	**4,41**
6	10	16,2	16,1	13,8	2,3	**6,67**	**6,54**
8	6	9,65	9,6	6,5	3,1	**8,99**	**8,67**

Die Tabelle gibt über alle Einzelheiten unseres Vorgehens näheren Aufschluß. Es wurden steigende Mengen der Acetonlösung verwandt (0,5, 1, 2, 4, 6, 8 ccm), so daß man die mittels jeder Methode erhaltenen Werte auch untereinander gut vergleichen konnte.

Die mit den beiden Methoden erhaltenen Acetonwerte finden sich in den beiden letzten Spalten der Tabelle. Wir sehen, daß die den steigenden Mengen der Lösung entsprechenden Acetonwerte recht genau proportional in die Höhe gehen. Aber auch die Übereinstimmung der mit den beiden Methoden gefundenen Werte untereinander ist sehr gut, die Differenzen übersteigen

nicht Bruchteile eines Milligramms. Die Angaben von Jolles, daß das Bisulfitverfahren zur Acetonbestimmung sehr gut verwendet werden könne, werden damit bestätigt; der einzige Nachteil ist, daß man das Reaktionsgemisch 30 Stunden stehen lassen und den Titer der Bilsulfitlösung kontrollieren muß.

In einer weiteren Versuchsreihe haben wir dann reine Aldehydlösungen mit den beiden Methoden untersucht. Einige Beispiele gibt die Tabelle II wieder. Auch hier wurden steigende Mengen der gleichen Lösung verarbeitet, so daß die diesen Mengen entsprechenden Werte unmittelbar miteinander verglichen werden können.

Tabelle II.

Bestimmung des Acetaldehyds in reinen Lösungen.

Messinger-Huppertsches Verfahren (Modif. nach Fürth-Charnass)								Rippersches Verfahren
Menge der Aldehydlösg. ccm	Verdünnung mit Wasser ccm	Laugenzusatz ccm	Jodwert der Lauge n/10-Jodlösung ccm	n/10-Jodzusatz ccm	Thiosulfatverbr. der ungeb. Jodlösung ccm	An Aldehyd geb. Jodlösung ccm	Aldehydmenge in mgr	Aldehydmenge in mgr
0,5	500	60	0,36	4	2,6	1,04	**0,762**	**1,21**
1	500	80	0,48	6	3,65	1,87	**1,3707**	**2,2**
2	500	60	0,36	8	3,8	3,84	**2,814**	**4,51** (für beide Zeilen)
2	800	80	0,48	8	3,35	4,17	**3,0566**	
4	800	60	0,36	10	2,1	7,54	**5,5268**	**8,8**
6	800	60	0,36	15	3,15	11,49	**8,422**	**13,31**
8	800	60	0,36	20	4,95	14,69	**10,7677**	**17,82**

Betrachten wir hier wiederum die beiden letzten Spalten der Tabelle, in der die mit den beiden Methoden gefundenen Aldehydwerte zusammengestellt sind, so zeigt sich hier ein großer Unterschied. Die mit der Jodoformbindungsmethode erhaltenen Werte betragen nur etwa 60—70% der mit dem Bisulfitverfahren erhaltenen. Trotz strengster Einhaltung der von Fürth und Charnass angegebenen Vorschriften findet man den Aldehyd hier nicht quantitativ wieder. Auffallend ist nur das eine, daß der erhaltene Prozentsatz der theoretisch geforderten Menge anscheinend ziemlich konstant ist, so daß man evtl. durch eine Anbringung einer Korrektur ungefähr richtige Werte erhalten könnte.

Tabelle III.

Aceton-Aldehydbestimmung im Gemisch nach der Jodoformbindungsmethode.

Menge der Aceton-Aldehyd-lösung ccm	Vor Zerstörung des Aldehyds: Verdünnung mit Wasser ccm	Vor Zerstörung: Temperatur während des Vorgangs	Vor Zerstörung: Laugenzusatz ccm	Vor Zerstörung: Vorgelegte $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Vor Zerstörung: $^n/_{10}$-Thiosulfat-verbrauch zur Bindung der ungebundenen $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Vor Zerstörung: Jodwert d. Lauge	Vor Zerstörung: An Aceton + Aldehyd gebundene Menge $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Nach Zerstörung des Aldehyds: Laugenzusatz ccm	Nach Zerstörung: Vorgelegte $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Nach Zerstörung: Temperatur während des Vorganges	Nach Zerstörung: Jodwert d. Lauge	Nach Zerstörung: $^n/_{10}$-Thiosulfat-verbrauch zur Bindung der ungebundenen $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	An Aceton gebundene Menge $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	An Aldehyd gebundene Menge $^n/_{10}$-Jodlösung ccm	Aceton-menge in mg	Aldehyd-menge in mg
1	500	Zwischen 1° und 10° C	60 ccm in 2 Portionen à 40 u. 20 ccm	4	2,1	0,36	1,54	40	3	10° C nicht übersteigend	0,24	2,1	0,66	0,88	0,638	0,645
2	500			5	1,3	0,36	3,34	40	3		0,24	1,45	1,81	2,03	1,267	1,488
4	800			10	2,15	0,36	6,69	40	8		0,24	5,64	2,61	4,08	2,54	2,99
8	800			16	2,3	0,36	13,34	40	10		0,24	4,9	4,86	8,48	4,59	5,94
12	800			25	4,6	0,36	20,04	40	15		0,24	8,35	6,41	13,63	6,198	9,99
16	800			32	7,95	0,36	23,69	40	15		0,24	5,7	9,04	14,95	8,74	10,96
10	800			20	2,95	0,36	16,04	40	12		0,24	6	5,76	10,93	5,57	8,012

Tabelle IV.

Aceton-Aldehydbestimmung im Gemisch nach der Bisulfitmethode.

Menge der Aceton-Aldehyd-lösung ccm	Vorgelegte $^n/_5$-Bisulfit-lösung ccm	Bisulfitmenge entsprechend einer Menge $^n/_{10}$-Jodlösung: vor dem Versuch ccm	Bisulfitmenge entsprechend einer Menge $^n/_{10}$-Jodlösung: nach 42 stg. Stehen ccm	Im Versuchsgemisch ungebunden gebliebene Bisulfitmenge	An Aceton und Aldehyd gebund. Bisulfitmenge	Nach Aldehydzerstörung ungebunden geblieb. Bisulfitmenge	An Aceton gebundene Bisulfitmenge	An Aldehyd gebundene Bisulfitmenge	Aceton-menge in mg	Aldehyd-menge in mg
				entsprechend einer Menge $^n/_{10}$-Jodlösung in ccm						
1	6	9,65	9,55	8,7 8,75 8,8	0,8	9,8	0,25	0,55	0,725	1,21
2	6	9,65	9,55	7,9 8 8,1	1,55	9,1	0,45	1,1	1,8	2,42
4	10	16,2	15,9	12,9 12,9 12,9	8	15,1	0,8	2,2	2,82	4,84
8	10	16,05	15,8	10,1 10,2 10,8	5,6	14,2	1,6	4	4,64	8,8
12	10	16,05	15,8	7,7 7,8 7,9	8	18,7	2,1	5,9	6,09	12,98
16	16	25,55	25,4	13,65 13,6 13,55	11,8	22,15	3,25	8,55	9,48	17,71

Nachdem wir uns so über die Leistungsfähigkeit der beiden Verfahren, sowohl hinsichtlich des Acetons wie des Aldehyds Aufschluß verschafft hatten, stellten wir aus gleichen Teilen der beiden Lösungen, die uns zu den mitgeteilten Versuchen gedient hatten, Gemische her. In diesen wurde zuerst mit der Jodoformmethode, dann mit der Bisulfitmethode die Gesamtmenge von Aldehyd + Aceton ermittelt. Um dann die Menge von Aldehyd und Aceton im einzelnen zu erfahren, wurde in einem besonderen Versuch der Aldehyd durch 20 Minuten dauerndes Kochen mit Silberoxyd am Rückflußkühler (nach Embden-Masuda[1]) entfernt, und nun das zurückgebliebene Aceton bestimmt. Die auf Aldehyd entfallende Menge ergab sich sehr einfach durch Subtraktion des auf das Aceton treffenden Jodbindungswertes von dem Wert der gesamten Jodbindung.

Tabelle III gibt eine solche Versuchsreihe wieder, in der das Jodoformverfahren, Tabelle IV eine weitere, bei der das Bisulfitverfahren angewendet worden ist. Auch hier sind alle Einzelheiten aus den Tabellen zu ersehen[2]). Zu den in Tabelle IV mitgeteilten Versuchen wäre noch zu bemerken, daß wir anfangs, als wir dem Vorschlage von Ad. Jolles folgend das Gemisch von Aceton und Aldehyd 30 Stunden reagieren

Tabelle V.

Lösungen von Aceton + Acetaldehyd.

(Übersicht über die Ergebnisse der in Tabelle III und IV mitgeteilten Versuche.)

Zur Bestimmung verwandte Menge der Aceton-Aldehydlösung ccm	Es wurden gefunden an Aldehyd und Aceton in mg:			
	n. d. Jodoformbindungsverfahren		nach dem Bisulfitverfahren	
	Aldehyd mg	Aceton mg	Aldehyd mg	Aceton mg
1	0,65	0,64	1,21	0,73
2	1,5	1,3	2,42	1,3
4	2,99	2,54	4,84	2,32
8	5,9	4,6	8,8	4,64
12	9,9	6,2	12,98	6,1
16	10,96	8,74	17,7	9,43

[1]) l. c.

[2]) Da die verwendete Lauge vielfach jodbindende Substanzen enthielt, ist der Jodbindungswert jedesmal besonders verzeichnet.

ließen, zu niedrige Werte bekamen. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen stellte sich dann heraus, daß die Reaktionszeit noch immer zu kurz war; erst, als wir sie auf 42 Stunden ausdehnten, bekamen wir genau übereinstimmende Werte.

Die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen III und IV finden sich zusammengestellt in Tabelle V. Hier können wir die mit den beiden Verfahren erhaltenen Werte unmittelbar vergleichen. Die Übereinstimmung der Acetonzahlen darf in Anbetracht der mannigfachen Eingriffe, denen die Lösungen bei der gleichzeitigen Aldehyd- und Acetonbestimmung unterworfen werden müssen (Kochen mit Silberoxyd am Rückflußkühler, wobei Aceton in kleinen Spuren verlorengehen kann, Redestillation usw.), als sehr gut bezeichnet werden. Im Gegensatz hierzu fällt der starke Unterschied zwischen den mit den beiden Methoden erhaltenen Aldehydzahlen ganz besonders auf. Das Jodoformverfahren ist demnach für die quantitative Bestimmung von Aceton und Aldehyd in Gemischen nicht zu gebrauchen. Das einzige Verfahren, das genaue Werte liefert, ist das Rippersche; die Reaktionszeit muß jedoch auf mindestens 40 Stunden ausgedehnt werden; die von Jolles für Lösungen von reinem Aceton als ausreichend befundene Zeit von 30 Stunden genügt nicht.

Zusammenfassung.

1. Die quantitative Bestimmung von Aceton und Aldehyd, die nebeneinander in Flüssigkeiten vorkommen, stößt auf Schwierigkeiten, da das für jeden der beiden Körper am besten brauchbare Bestimmungsverfahren sich nicht auch zur Ermittelung des anderen Körpers eignet; die für die quantitative Ermittelung des Acetons vorzüglich geeignete Jodoformmethode gibt für den Aldehyd zu niedrige Werte, während umgekehrt das den Aldehyd so genau bestimmende Rippersche Verfahren in der gewöhnlichen Form der Ausführung beim Aceton versagt.

2. Es wird daher in reinen Lösungen von Aldehyd die von Fürth und Charnass dafür besonders angegebene Modifikation der Messinger-Huppertschen Methode, mit der es möglich sein soll, Aldehyd quantitativ zu erfassen, nachgeprüft.

Dabei werden etwa nur 60—70% der nach Ripper erhaltenen Werte gefunden. Nach unseren Versuchen bieten also die von Fürth und Charnass gegebenen Vorschriften keine Gewähr für die quantitative Ermittelung der Aldehyde nach dem Jodoformverfahren.

3. Es wird dann in reinen Lösungen von Aceton die von Jolles zur Acetonbestimmung empfohlene Anwendung des Ripperschen Verfahrens, wobei die Reaktionszeit auf 30 Stunden ausgedehnt werden soll, nachgeprüft und eine ausgezeichnete Übereinstimmung der dabei erhaltenen Werte mit denen nach Messinger-Huppert gefunden.

4. Schließlich werden Gemische von Aceton- und Aldehydlösungen einmal dem Jodoformverfahren in der Modifikation nach Fürth und Charnass, dann dem Ripperschen Verfahren (mit einer Reaktionszeit von 30 Stunden) unterworfen und so die gesamte Jodoformbindung bzw. die gesamte Bisulfitbindung festgestellt. Gleichzeitig wird in anderen Proben des Gemenges der Aldehyd durch Kochen mit Silberoxyd am Rückflußkühler nach Embden-Masuda zerstört und nun festgestellt, wie stark die Bindungswerte durch den Fortfall des Aldehyds abgenommen haben.

5. Dabei zeigt sich wiederum die Unbrauchbarkeit des Jodoformverfahrens für die Aldehydbestimmung. Mit der Bisulfitmethode gelingt es dagegen sehr gut, sowohl Aceton wie Aldehyd quantitativ zu bestimmen, nur muß die Reaktionszeit auf 40 Stunden verlängert werden, wenn man sicher sein will, daß alles Aceton gebunden ist.

Weitere Beiträge zur Physiologie der Hefe.

Von

Erich Köhler.

(Aus dem Botanischen Laboratorium der Hochschule Weihenstephan.)

(Eingegangen am 4. August 1920.)

Mit 1 Abbildung im Text.

A. Über Fermentverbrauch und Fermentersatz.

Nachdem über den Einfluß des Alkohols und des Zuckers auf die Kinetik der Gärung eine gewisse Klarheit gewonnen wurde, soll im folgenden die Frage nach der Abhängigkeit der Gärung von den Faktoren Fermentverbrauch und Fermentersatz einer kurzen Behandlung unterzogen werden.

Methodik: Eine Suspension von Hefe in Leitungswasser wird in einem Gefäß durch Stehenlassen zum Absitzen gebracht. Nach dem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit wird der Hefebrei mit einer Zuckerlösung versetzt, durch kräftiges Umschütteln in der Lösung suspendiert und in einen Pasteurkolben eingefüllt. Die Gärung wird mit Hilfe der vom Verfasser [1]) angegebenen Gasblasenzählung verfolgt. Nach dem Einfüllen in den Kolben sitzt die Hefe ziemlich rasch ab. Kürzere oder längere Zeit darauf tritt ein Aufwallen der Hefe ein, verursacht durch den Auftrieb, der entsteht infolge der zwischen den Hefezellen festgehaltenen Gärungskohlensäure. Das Aufwallen erfolgt plötzlich; die Zeit, die zwischen dem Zusetzen des Zuckers und dem Aufwallen verstreicht, gibt in gewissen Grenzen einen Maßstab ab für die Intensität der Angärung.

Versuch: Ca. 6 ccm Hefebrei gewaschener Weihenstephaner [2]) Unterhefe mit 100 ccm Maltoselösung (4 proz.) versetzt. Temperatur 21°.

Ansetzen des Versuchs 8^h 15′ (erster Ansatz).

Aufwallen 8^h 22′.

[1]) Diese Zeitschrift **108**, 235. 1920.

[2]) Die betreffende Hefe wurde ca. 24 Stunden nach Erneuerung des letzten Waschwassers verwendet.

Zeit	Zahl der Blasen (in 1/2 Min.)	Zeit	Zahl der Blasen (in 1/2 Min.)
8h 24′	28	8h 45′	37
8h 26′	44	8h 50′	44
8h 28′	46	8h 55′	49
8h 30′	41	9h 00′	46
8h 32′	29	9h 10′	48
8h 34′	33	9h 30′	34
8h 36′	30	9h 50′	22
8h 38′	32	10h 30′	11
8h 40′	32	2h 00′	6

Überträgt man die Werte nebenstehender Tabelle in ein Koordinatensystem, so erhält man Kurve I, bei deren Betrachtung die drei Kardinalpunkte *a*, *b*, *c* auffallen. Wir bezeichnen das Maximum bei *a* als vorläufiges Maximum, dasjenige bei *c* als Hauptmaximum. Man sieht, daß auf einen sehr steilen Anstieg der Kurve bis *a* ein plötzliches Absinken nach *b* folgt.

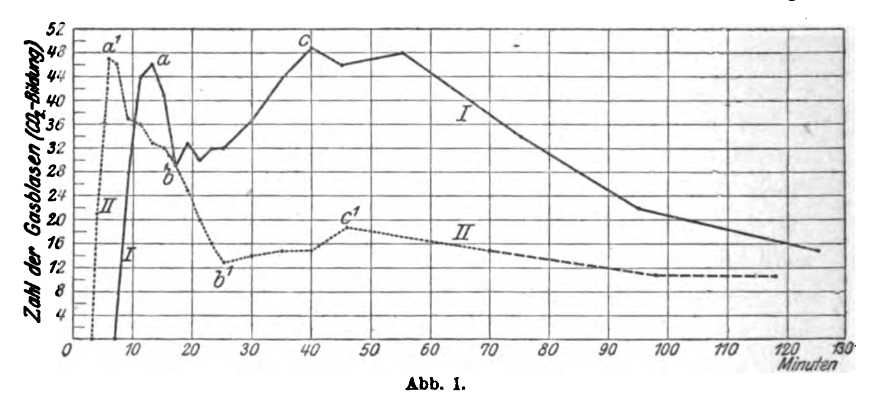


Abb. 1.

Der darauf folgende Anstieg zum Hauptmaximum, der das vorläufige Maximum übertrifft, ist weniger steil als der erste Anstieg. Nachdem das Hauptmaximum erreicht ist, hält sich die Kurve eine Zeitlang auf annähernd der gleichen Höhe, um dann langsam abzusinken.

Um 2 Uhr nachmittags Unterbrechung des Versuchs. Durchschütteln und Absitzenlassen der Hefe. Abgießen der Flüssigkeit und Zugeben einer frischen Maltoselösung, wie beim ersten Ansatz.

Ansetzen des Versuchs 2,27 (zweiter Ansatz).

Aufwallen 2,30.

Zeit	Zahl der Blasen (in $^1/_2$ Min.)	Zeit	Zahl der Blasen (in $^1/_2$ Min.)
$2^h\ 31'$	21	$2^h\ 50'$	16'
$2^h\ 32'$	36	$2^h\ 52'$	13
$2^h\ 33'$	47	$2^h\ 57'$	14
$2^h\ 34'$	46	$3^h\ 02'$	15
$2^h\ 36'$	37	$3^h\ 07'$	15
$2^h\ 38'$	36	$3^h\ 13'$	19
$2^h\ 40'$	33	$3^h\ 37'$	15
$2^h\ 42'$	32	$4^h\ 05'$	11
$2^h\ 44'$	29	$4^h\ 25'$	11
$2^h\ 46'$	25	$5^h\ 30'$	9
$2^h\ 48'$	20'		

Überträgt man die gewonnenen Werte in ein Koordinatensystem, so erhält man Kurve II. Punkt a' (vorläufiges Maximum) b' (Minimum), c' (Hauptmaximum). Die Gärung setzt bedeutend rascher ein als bei I. Das vorläufige Maximum a' ist 7 Minuten früher erreicht und übertrifft sogar a. Der darauffolgende Abfall nach b' ist sehr tief im Vergleich zu I. Das Hauptmaximum c' erreicht bei weitem nicht das vorläufige Maximum a'.

Einen Versuch zur Analyse der beiden Kurven bringen die folgenden Ausführungen:

In der zum Versuch verwendeten Hefe ist eine gewisse, von der Vorbehandlung der Hefe abhängige Quantität aktivierter Fermente disponibel: „Fermentspiegel." Versetzt man die Hefe mit einem Zucker, der rasch vergoren wird (Maltose), so wird diese Quantität durch die sofort einsetzende Gärung rasch aufgebraucht, und die Gärung würde zum Stillstand kommen, wenn nicht von der Hefe Ferment restituiert würde. (Ich spreche vorläufig von „Ferment" im allgemeinen, wenn auch Anhaltspunkte vorliegen für die Vermutung, daß es sich um die „Zymase" handelt.) Der Anfangsverlauf der Kurven ist wesentlich bedingt durch das Verhältnis Fermentverbrauch zu Fermentersatz. Wenn letzterer mit ersterem nicht Schritt halten kann, so muß sich dies in einer Abnahme der Gärungsgeschwindigkeit, also einem Absinken der Kurve, bemerkbar machen. Dies ist bei dem vorliegenden Versuch der Fall. Je langsamer die Fermentrestitution erfolgt, desto plötzlicher wird das Absinken eintreten, und desto tiefer wird der Abstieg sein. Wir müssen uns ferner vorstellen, daß die Gegenwart des Zuckers als Reiz auf das Plasma wirkt, und daß die Reaktion auf diesen Reiz in einer bis zur Er-

reichung eines Maximums anwachsenden Fermentaktivierung besteht. Ein solches Maximum ist erreicht bei *c*. Von nun an macht sich die Abnahme der Zuckerkonzentration mehr und mehr geltend. Es wird immer weniger von der disponiblen, frisch aktivierten Fermentmenge verbraucht, die Kurve sinkt langsam ab. Es reichert sich also Ferment in der Hefe an, und es kommt zur Bildung des Fermentspiegels. Daß die Abnahme der Gärung nach Erreichung des Hauptmaximums in erster Linie auf die herabgesetzte Zuckerkonzentration zurückgeführt werden muß und nicht auf den Mangel an Fermenten, geht aus der weiteren Führung des Versuchs hervor.

Wenn man nämlich, nachdem das Hauptmaximum längst überschritten ist, die noch in Gärung befindliche Hefe von der alten Lösung befreit und mit einer frischen Maltoselösung versetzt, so kommt es sofort zu einer stürmischen Gärung, bei welcher der Fermentspiegel in Kürze aufgebraucht wird. Das dem vorläufigen Maximum (*a*) des ersten Ansatzes entsprechende Maximum *a′* wird früher erreicht. Häufig liegt *a′* bedeutend höher als *a*. Die relative Lage der Punkte *a* und *a′* ist außer von der Geschwindigkeit des Fermentersatzes von der Stärke der beiden Fermentspiegel, wie sie vor dem Ansetzen zur Gärung in der Hefe vorhanden waren, abhängig. Da nun die Gärkraft der Hefe (die Fähigkeit „Ferment" zu produzieren) infolge der vorangegangenen Beanspruchung eine Schwächung erfahren hat, so erfolgt ein viel tieferes Absinken der Kurve als beim ersten Gäransatz (vgl. die einander entsprechenden Punkte *b* und *b′*), und der zweite Anstieg erreicht bei weitem nicht mehr die Höhe des ersten (vgl. *c* und *c′*). Setzt man die Hefe zum dritten Male mit einer frischen Lösung an, so zeigen sich die Unterschiede in verstärktem Maße. Es liegt auf der Hand, daß die Erscheinung eines vorläufigen Maximums in den Fällen unterbleibt, wo gar kein oder nur ein schwacher Fermentspiegel in der verwendeten Hefe vorhanden ist. In solchen Fällen strebt die Gärung von Anfang an dem Hauptmaximum zu. In unserem Versuch I wäre das Absinken von *a* nach *b* auf Fermentmangel, das Absinken hinter *c* auf Zuckermangel zurückzuführen.

Man sieht, daß ein starker Fermentspiegel auch in einer wenig gärkräftigen Hefe vorhanden sein kann, und daß die bei der Angärung entwickelte Gärungsintensität nur dann einen Maß-

stab für die Gärkraft liefern kann, wenn die Hefe keinen Fermentspiegel in den Versuch mitbringt. Die Frage, welche Faktoren die Bildung des Fermentspiegels bedingen, soll in einer späteren Untersuchung behandelt werden. Die Überlegung zeigt, daß man bei Versuchen, in denen der Einfluß von irgendwelchen Stoffen auf die Fermentproduktion studiert werden soll, zu berücksichtigen hat, ob die verwendete Hefe sich in einem Zustand der Fermentanreicherung befindet, da offenbar ist, daß die Gärung bei Gegenwart eines Fermentspiegels anderen Gesetzen folgt als ohne einen solchen.

B. Über den Zusammenhang von Gärung und Wachstum.

1. Assimilation und Gärung.

Die heterotrophen Saprophyten unterscheiden sich von den autotrophen (grünen) Pflanzen grundsätzlich dadurch, daß sie auch ihre organischen Nährstoffe aus dem umgebenden Medium aufnehmen müssen. Die Assimilation der organischen Stoffe ist — wenigstens in ihren ersten Stufen — an die Peripherie der Zelle verlegt, an die Grenzen von Plasma und Nährmedium. Dies scheint mir ein wesentlicher Gesichtspunkt zu sein.

Auch die Tiere sind ja auf organische Nahrungsstoffe angewiesen und nicht imstande, dieselben aus anorganischen Substanzen aufzubauen. Von vornherein könnte daher erwartet werden, daß wir bei den Tieren einen ähnlichen Mechanismus der Nahrungsaufnahme antreffen wie bei den Saprophyten. Das ist auch bis zu einem gewissen Grad der Fall. Die gebotenen Nahrungsstoffe müssen in beiden Fällen „körpereigen" gemacht, also einer weitgehenden Umformung unterzogen werden. Nur die Art, wie das gemacht wird, ist grundverschieden. Beim Tier haben wir den Vorgang der Verdauung. Das heißt, die die Umformung besorgenden Stoffe werden in einen für den Prozeß der Umformung bestimmten Hohlraum im Innern des Körpers ausgeschieden, sezerniert. Die Sekrete sind Ektoenzyme. Anders beim Saprophyten. Hier kann eine Sekretion der die Umformung besorgenden Enzyme normalerweise nicht in Frage kommen in allen den Fällen, wo die Nährstoffe in einem flüssigen Substrat geboten sind. Um eine Enzymverschwendung zu vermeiden, müssen die Nahrungsstoffe am Plasma ver-

ankert und im Zusammenhang mit dem Plasma umgeformt werden.

Gase, die an der Peripherie des Leibes gebildet werden, können ohne weiteres in das umgebende Medium difundieren und sind infolgedessen verhältnismäßig unschädlich. Fermentative, mit Gasentwicklung verbundene Umsetzungen im Verdauungstraktus eines Tieres, müßten besondere Einrichtungen zur Ableitung der Gase erforderlich machen. Damit dürfte es wohl zusammenhängen, daß bei den Tieren von der bei Pilzen und Bakterien so weit verbreiteten Möglichkeit der Spaltung unter Gasentwicklung kein Gebrauch gemacht wird.

Die Anpassung an die Verwertung und Assimilierbarkeit der im Nährmedium gebotenen organischen Substanzen ist bei den verschiedenen Saprophyten ungleich weit fortgeschritten und hat sich in verschiedener Richtung spezialisiert. Dieses Vermögen, organische Stoffe zu verwerten, ist charakterisiert durch die Fähigkeit der peripheren Bezirke des Plasmas, die organischen Substanzen, entsprechend der Anpassungsstufe des betreffenden Organismus entweder unmittelbar als Bausteine zur Synthse der lebenden Masse aufzunehmen oder sie mit Hilfe von Fermenten für die Verwendung geeignet zu machen.

Es liegt nahe, die in den Gärungsvorgang eingreifenden Fermente allgemein mit einer solchen ernährungsphysiologischen Funktion in Beziehung zu setzen, wie das schon für Einzelfälle bekannt ist; so wissen wir beispielsweise aus den Versuchen von F. Ehrlich[1]), daß die den Hefen gebotenen Aminosäuren nicht ohne weiteres zum Aufbau der Leibessubstanz Verwendung finden können: sie müssen zuvor vergoren und umgeformt werden.

Wir bringen also die Gärung allgemein in Zusammenhang mit der Assimilation der Nährstoffe. Als eine schwierige, der Aufhellung bedürftige Frage könnte die folgende erscheinen: Wie kommt es, daß bei der Gärung häufig so gewaltige Mengen von Stoffen umgesetzt werden, ohne daß wir in diesem Vorgang einen direkten Vorteil für den Organismus erkennen können? Wenn wir auch die einleuchtende Annahme machen, daß der Gärungserreger erst die Spaltprodukte für die

[1]) Zitiert nach Euler und Lindner, Chemie der Hefe, 1913, S. 212.

Assimilation verwenden könne, so müssen wir uns doch fragen, wie kommt es, daß Spaltprodukte im Überfluß gebildet und nur zum kleinsten Teil vom Organismus ausgenützt werden? Wir wissen ja, daß das Wachstum nach „dem Gesetz des Minimums" erfolgt[1]). Ein im Überschuß vorhandener Nährstoff ist, soweit er nicht aufgespeichert wird, für den Organismus als Baustoff wertlos. Wenn wir auch nachgewiesen hätten, daß die fermentative Gärung eine Voraussetzung für die Ausnützbarkeit gewisser Stoffe für den Aufbau der Leibessubstanz sei, so wäre damit die Bedeutung der „überschüssigen" Gärung noch unklar.

Es ist nun wohl denkbar, daß eine solche Bedeutung überhaupt nicht vorhanden ist, daß es sich dabei um eine Nebenerscheinung der Assimilation handelt, die allerdings bedeutende Ausmaße annehmen und indirekt durch Erzeugung von Kampfstoffen (Lindner, Wortmann) dem Organismus von Nutzen sein kann. Wir kennen ja eine Fülle von Erscheinungen zweckloser Energieentfaltung im ganzen Pflanzenreich. Es sei hier nur hingewiesen auf das kürzlich erschienene Werk von K. Goebel[2]), in welchem ein bedeutendes Material kritisch verwertet wird. Die Frage nach der ökologischen Bedeutung der überschüssigen Gärung braucht uns demnach nicht weiter zu beunruhigen. Übrigens könnte man den Vorgang in Parallele setzen zu dem Leuchten der Bakterien und höheren Pilze[3]).

In der Annahme, es könnten in vielen Fällen erst die Spaltprodukte für die Ernährung verwendet werden, würde nichts Befremdendes liegen, sobald sich nachweisen ließe, daß die Spaltprodukte für die Ernährung verwertet werden können. Wir wissen beispielsweise, daß das Glycerin und die Brenztraubensäure — als Zwischenprodukte der alkoholischen Gärung (Neuberg[4]) — gute Kohlenstoffquellen für Hefen sind. Wie es in dieser Hinsicht mit dem Acetaldehyd, einem hauptsächlichen Zwischenprodukte (Neuberg), steht, scheint noch unsicher zu sein. Daß grüne Pflanzen den als Zwischenprodukt bei der CO_2-Assimilation entstehenden Formaldehyd in hervorragender Weise verwenden können, ist bekannt (Bokorny, Grafe, Jacoby)

[1]) Vgl. Jost, Pflanzenphysiologie, 3. Aufl.

[2]) Karl Goebel, Die Entfaltungsbewegungen der Pflanzen. Jena 1920.

[3]) Vgl. Molisch, Leuchtende Pflanzen. Jena 1904.

[4]) Unters. seit 1910.

und es ist von vornherein wahrscheinlich, daß der Acetaldehyd von der Hefe assimiliert werden kann.

Man könnte sich also vom Mechanismus der Gärung folgende Vorstellungen machen: Die Gärungsfermente bilden das Substrat zu Bausteinen um. Diese Bausteine werden zur Plasmasynthese verwendet. Hierbei tritt das Gesetz des Minimums in Kraft. Hat die Zelle für die Bausteine keine Verwendung — und dieser Fall tritt ein, wenn andere für die Synthese erforderlichen Stoffe fehlen — so treten diese Stoffe ohne weitere Veränderung oder nach weiter erfolgtem Abbau als Gärprodukte in Freiheit[1]).

Machen wir uns diese Vorstellungen zu eigen, so müssen wir damit rechnen, daß im Falle ausbleibender Fermentproduktion ein Wachstum unmöglich wird. Dies führt uns auf die Frage, von welchen Faktoren ist die Fermentbildung abhängig?

Um Unklarheiten zu begegnen, müssen zwei mögliche Fälle der Beeinflussung der Gärung lebender Hefe durch ein Agens scharf auseinandergehalten werden. Eine stimulierende Wirkung auf die Lebendgärung kann zustande kommen entweder direkt dadurch, daß das betreffende Agens die fermentative Umsetzung stimulierend beeinflußt, (Beispiel: die COH-Gruppe; Neuberg), oder indirekt dadurch, daß es die Fermentproduktion fördernd beeinflußt („Reizwirkung"). Diese beiden Möglichkeiten werden nicht immer gebührend auseinandergehalten. Die Beeinflussung durch ein und dasselbe Agens muß nun offenbar in beiden Fällen nicht notwendig gleichsinnig sein. Es wäre beispielsweise wohl denkbar, daß ein Stoff auf die zellfreie Gärung stimulierend, auf die Fermentproduktion dagegen hemmend wirken könnte.

Zur Beantwortung der aufgeworfenen Frage lassen sich verschiedene Beobachtungen heranziehen. Daß im Plasma die notwendigen Baustoffe vorhanden sein müssen, ist eine selbstverständliche Voraussetzung. Es spielen aber entschieden noch andere Faktoren mit, die bis jetzt zu wenig Berücksichtigung erfahren haben. Wenn wir wieder den Prozeß der Verdauung und Resorp-

[1]) Diese Vorstellung erlaubt es auch, einen Unterschied zwischen Atmung und Gärung zu präzisieren. Für die Atmung ist demnach charakteristisch die Zertrümmerung assimilierter Teile, für die Gärung die Zertrümmerung nicht assimilierter Stoffe.



tion im Tierkörper als Analogon zu Hilfe nehmen, so liegt es nahe, auch hier wieder an eine vom Nährsubstrat ausgehende Reizwirkung zu denken.

In umfassenden Versuchen wurde die Frage nach der Reizwirkung verschiedener Substanzen auf die Bildung der Gärungsfermente behandelt in der von Lange[1]) referierten Arbeit aus dem Institut für Gärungsgewerbe in Berlin, jedoch ohne daß der Zeitfaktor eine genügende Berücksichtigung erfahren hätte. — Jacoby[2]) fand, daß die Kulturen harnstoffspaltender Bakterien bei vollkommener Abwesenheit von Bouillon zwar am Leben und entwicklungsfähig blieben, daß aber Entwicklung und Fermentbildung gehemmt war. Jacoby gelangt zu der Anschauung, „daß die Entwicklungshemmung der Bakterien mit der Hemmung der Fermentbildung zusammenhängt und wohl die Entwicklungshemmung auf die Hemmung der Fermentbildung zurückzuführen ist". M. Jacoby fand außerdem, daß Substanzen aus dem Verwandtschaftskreis der Zucker die Fermentbildung — und damit auch Wachstum und Gärung — bei den harnstoffspaltenden Bakterien in verschiedenem Maße beeinflussen und teilt sie nach ihrer Wirksamkeit in vier Gruppen ein. Von den Zuckern gehören zu den unwirksamen Stoffen z. B. Saccharose und Lactose, zu den spurenweise wirksamen Maltose, zu den mäßig wirksamen d-Fructose, zu den hochwirksamen d-Glucose und d-Galaktose.

Es ist nun sehr interessant, daß in einer jüngst erschienenen Veröffentlichung von Boas, Leberle und Langkammerer[3]) ebenfalls festgestellt wird, daß die Lebenstätigkeit der Hefe in hohem Maß von der gebotenen Zuckerquelle abhängt. Die Autoren gelangen zur Aufstellung einer Zuckerreihe in der Folge: Saccharose, Lävulose, Dextrose, Maltose. Wenn auch nach den eigenen Untersuchungen des Verfassers[4]) eine gewisse Vorsicht am Platze ist allen Feststellungen gegenüber, die die Zuckerwirkung betreffen — da die Konzentration der gebotenen Zuckerquelle von ausschlaggebender Bedeutung ist —, so ist doch ohne Frage eine spezifische Zuckerwirkung erwiesen, die wir auch wieder mit der von Jacoby festgestellten Wirkung auf die Fermentbildung in Parallele setzen können.

Die Annahme Jacobys freilich, daß die fördernde Wirkung gewisser Substanzen mit deren Verwendbarkeit als Baustoffe der Urease zusammenhänge, erscheint mir wenig wahrscheinlich. Nach unserer Vorstellung hätten wir es mit einer Aktivierung der Fermentbildung zu tun, mit einer Reizwirkung auf die lebende Substanz, deren Kausalität noch nicht aufgeklärt ist. Dasselbe gilt wohl auch für die von Boas, Leberle und Langkammerer

---

[1]) H. Lange, Wochenschr. f. Brauerei 24, 417. 1907.
[2]) M. Jacoby, diese Zeitschr. 79 u. 80. 1917.
[3]) Diese Zeitschr. 105, 199. 1920.
[4]) E. Köhler, diese Zeitschr. 106, 194. 1920.

entdeckte „spezifische Zuckerwirkung". Man braucht dann auch nicht die an sich unwahrscheinliche Annahme der Autoren von der Giftigkeit der Saccharose zu teilen. Die Saccharose ist bekanntlich ein ausgezeichnetes Konservierungsmittel für Hefe (Hansen); und wenn die Autoren nachgewiesen haben, daß Wachstum und Gärung bei alleiniger Darbietung von Saccharose als C-Quelle gering, von Maltose stark, in einer Mischung von gleichen Teilen Maltose und Saccharose ebenfalls stark ist, so offenbart sich darin das mangelhafte Vermögen der Saccharose, die Fermentproduktion anzuregen. Sind die Fermente einmal gebildet, so kann die Saccharose ebensogut verwertet werden wie die Maltose.

2. Zur Lokalisierung der Gärungsfermente.

Wenn wir finden, daß ganz geringe Unterschiede in den Konzentrationen der auf die Fermentproduktion als Reizstoffe wirkenden Substanzen imstande sind, Gärung und Wachstum tiefgehend zu beeinflussen, so kann die Erwägung, ob die Diffusionsfähigkeit dieser Stoffe (in die Hefe) dabei eine wesentliche Rolle spiele, außer Betracht bleiben. Die Wirkung der Reizstoffe ist von ihren osmotischen Eigenschaften weitgehend unabhängig, und wir sind zu der Vorstellung berechtigt, daß die an der Gärung direkt beteiligten Umsetzungen sich in den äußeren Regionen des Plasma abspielen. Den Fermenten kommt dabei die Rolle von Seitenketten, Receptoren (im Sinne von P. Ehrlich) zu, die das Substratmolekül ergreifen und umgestalten. (Der Organismus streckt dem Substratmolekül die Fermente sozusagen entgegen.) Die Produkte dieser Tätigkeit werden dann von anderen benachbarten Seitenketten ergriffen und weiterhin umgeformt oder zur Synthese verwendet. Die den meisten Biologen gegenwärtig geläufige Vorstellung, daß ein Stoff tiefer in das Zellinnere eindringen müsse, um in Wirksamkeit zu treten, dürfte sich kaum aufrecht erhalten lassen, wenigstens soweit sich die Betrachtung auf organische Substanzen erstreckt.[1])

---

[1]) Dasselbe gilt auch für gewisse anorgan. Salze. Denn Paine fand (Proc. Roy. Soc. B. 84; 1912), daß nach 20stündiger Einwirkung einer $^{n}/_{10}$-Natriumphosphatlösung auf Hefe der Eintritt von Phosphor in die Hefe nicht nachweisbar war.

Wenn wir die mit der Gärung verbundenen Umsetzungen in die äußeren, an das Nährmedium grenzenden Bezirke des Plasma verlegen, so lösen sich zwanglos viele Widersprüche, die in Anbetracht der Wirksamkeit eines Stoffes auf Gärung und Wachstum einerseits und dessen osmotischen Eigenschaften andererseits bestehen. Auch die Möglichkeit, nach C. Neubergs Methoden den bei der Gärung lebender Hefe als Zwischenprodukt entstehenden Acetaldehyd „abzufangen", ist eine Stütze für unsere Auffassung, was keiner weiteren Auseinandersetzung bedarf.

Zwischen Plasma und Nährmedium ist die Zellmembran eingeschaltet. Der Quellungs- und Dehnungszustand der Zellmembran wird ohne Frage die Permeabilität beeinflussen, und man wird aus diesem Grunde das Studium der Zellmembran nicht vernachlässigen dürfen.

Im folgenden einige Beispiele davon, wie sich bekannte Erscheinungen zwanglos mit unseren Vorstellungen in Einklang bringen lassen.

Ich zitiere aus einer Arbeit von H. Euler[1]), „Aktivierung lebender Hefe durch Hefenextrakt und durch Salze organischer Säuren" wörtlich: „Euler und Berggren hatten 1912 die Beobachtung gemacht, daß die Gärung lebender Hefe durch einen Extrakt von Trockenhefe beschleunigt wird, und zwar hatten sie unter den von ihnen gewählten Bedingungen eine Beschleunigung von etwa 100% gefunden[2]). Andererseits lag es nahe, diesen Befund mit der grundlegenden Entdeckung von Harden und Young in Beziehung zu setzen, daß bei der alkoholischen Gärung zwei Stoffe, bzw. Stoffgruppen wesentlich beteiligt sind, nämlich das als Zymase bezeichnete enzymatische Agens und außerdem ein sog. Co-Enzym, das durch seine Kochbeständigkeit charakterisiert ist[3]).

Andererseits war a priori nicht zu erwarten, daß die Gärung durch lebende Hefe bei Zusatz von Co-Encymhaltigem Hefenextrakt eine Beschleunigung erfahren würde, denn wie Harden und Young bei Besprechung des Euler-Berggrenschen Befundes hervorhoben[4]), ist die lebende Hefenzelle, wenn überhaupt, so nur sehr unvollkommen für das Co-Enzym permeabel[5]). „Demgemäß ist die

[1]) Zeitschr. f. techn. Biologie, Neue Folge der Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 7, 155. 1919.

[2]) Ebenda 1, 203. 1912.

[3]) Harden u. Young, Proc. Roy. Soc. B. 78, 369. 1906.

[4]) Harden u. Young, Biochemical Journ. 7, 630. 1913.

[5]) Von mir gesperrt. Man beachte die Fragestellung! Es ist m. E. die Frage ebenso berechtigt, ob überhaupt ein Eindringen des Co-Enzyms in die Zelle weiter als durch die Zellmembran hindurch notwendig ist, damit es in Wirksamkeit trete.

von Harden und Young aufgeworfene Frage berechtigt, ob die von Euler und Berggren gefundene Aktivierung nicht auf einen Zuwachs der Hefe zurückgeführt werden kann."

Im Verlauf seiner Untersuchungen kommt Euler zu dem Ergebnis, S. 159: „Es bestätigt sich also zunächst unser Versuch vom Jahre 1913, daß die Gärung durch lebende Hefe bei Zusatz eines nicht enzymatischen Bestandteils, der als Co-Enzym bezeichnet werden kann, beschleunigt wird, ohne daß ein Zellenzuwachs eintritt." Im weiteren Verlauf der Arbeit versuchte nun Euler die Permeabilität zu verändern, indem er die Hefe der Trocknung und der Einwirkung von Alkohol unterwarf. Bei der getrockneten Hefe fand er das „auffallende" Ergebnis, daß keine wesentliche Beschleunigung der Aktivierung eintrat, bei der mit Alkohol behandelten Hefe zeigte es sich, daß „die Gärungsgeschwindigkeit offenbar bedeutend zurückgegangen war". Euler bringt diese Ergebnisse nun nicht weiter mit seiner Fragestellung in Zusammenhang, äußert sich jedoch in einer Fußnote S. 162: „Falls es sich zeigt, daß die Enzymkomponente nicht wesentlich durch die Alkoholbehandlung bzw. die Wasserextraktion verändert wird, würde man in obigen Resultaten weitere Anhaltspunkte für die bereits von Euler und Berggren geäußerte Vermutung sehen können, daß, außer dem anorganischen Phosphat und dem Hardenschen Co-Enzym noch wenigstens ein weiterer Aktivator an der Gärung wesentlich beteiligt ist."

Das Ergebnis der Eulerschen Arbeit läßt sich mit der von uns oben entwickelten Anschauung gut vereinbaren. Weder die Permeabilität, noch ein weiterer Aktivator ist für die Deutung der Ergebnisse notwendig; es handelt sich wohl in allen Fällen der Aktivierung durch Hefeextrakt um eine direkte Reizwirkung auf das die Enzyme erzeugende Plasma, und diese Reizwirkung kann durch Behandlung der Hefe mit Alkohol, Formiaten und anderen Salzen oder durch Trocknung in förderndem oder hemmendem Sinn beeinflußt werden.

Warum sollte auch ein grundsätzlicher Unterschied bestehen in der Wirkungsweise gelöster Stoffe auf die Produktion der Fermente und derjenigen fester Stoffe? Bei letzteren ist der Gesichtspunkt der Permeabilität von vornherein ausgeschaltet.

Aus den Untersuchungen von H. Pringsheim[1]) geht hervor, daß das die Zellulose hydrolysierende Ferment von den Zersetzern der Zellulose nur auf Grund eines Reizes zur Wirksamkeit gebracht wird, welcher von dem Polysaccharid auf seine Verzehrer ausgeübt wird. Die die Zellulose angreifenden Mikroorganismen gedeihen nur in direkter Berührung mit der Zellulose. — Daß die Zellwand der Organismen kein Hindernis zu sein braucht für die Möglichkeit eines unmittelbaren Kontaktes zwischen Sub-

[1]) H. Pringsheim, Zeitschr. f. physiol. Chemie 78, 266. 1912.

strat und Plasma läßt sich aus den Mitteilungen von Hansteen - Cranner[1]) entnehmen, wonach man zu der Vorstellung berechtigt ist, daß die Zellmembran von Plasma durchsetzt ist.

Eine andere Erscheinung, die oben schon gestreift wurde, bedarf einer weiteren Diskussion, nämlich die Erscheinung der überschüssigen Gärung. Es werden danach bedeutend mehr Fermente produziert als notwendig wären, um den für Assimilation und Wachstum benötigten Fermentbedarf zu decken. Diese Erscheinung können wir vielleicht in Parallele bringen mit der Bildung der Antitoxine im Blut höherer Tiere. Wir wissen z. B. aus den Untersuchungen von Knorr[2]), daß das Pferd nach Injektion von Tetanusgift eine Antitoxinmenge produzieren kann, welche hinreicht das 100 000fache der verwendeten Dosis zu neutralisieren. Wenn wir nun, wie oben schon geschehen, die Gärungsfermente auffassen als Seitenketten des lebenden Protoplasma, so liegt es nahe, bei der Fermentbildung nach ähnlichen Gesetzmäßigkeiten zu suchen, wie sie die Bildung der Antitoxine beherrschen.

[1]) B. Hansteen - Cranner, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 1919, S. 380.

[2]) Zit. nach Römer, Die Ehrlichsche Seitenkettentheorie 1904, S. 10.

Zur Kenntnis der adialysabeln Bestandteile des Menschenharnes.

Von

Hugo Pribram und **Gustav Herrnheiser.**

(Aus der VII. Medizinischen Klinik und dem Pharmakologischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 5. August 1920).

In früheren Arbeiten konnte der eine von uns[1]) zeigen, daß dem adialysabeln Anteile des Harnes eine biologische Wirksamkeit zukommt.

Bei den weiteren Untersuchungen des Adialysates mußten sich folgende Fragen aufdrängen:

1. Wie wirkt das Adialysat im akuten Tierversuch?
2. Welcher Bestandteil der Harnkolloide ist Träger dieser Wirkung?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurden größere Mengen von Menschenharn dialysiert und es wurde einerseits in vitro versucht, das Adialysat noch weiter zu fraktionieren, und andererseits die erhaltenen Fraktionen auf ihre chemischen Reaktionen und ihre Wirkung im Tierversuche geprüft.

Es zeigte sich, daß der bei der Dialyse, deren technische Details weiter unten besprochen werden sollen, im Dialysierschlauche zurückbleibende kolloide Anteil des Harnes, einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert, regelmäßig Miose, die fast unmittelbar der Injektion folgte, und sehr häufig auch einen Schlafzustand mit herabgesetzter Reflexerregbarkeit bewirkte.

Diese Wirkung kommt den im Harn vorhandenen organischen Kolloiden zu, was einerseits aus dem negativen Ausfall der Unter-

[1]) H. Pribram, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1911 (daselbst Literatur) und Münch. med. Wochenschr. 1913.

suchung auf einzelne anorganische Ionen, andererseits aus dem ungemein geringen Aschegehalt des Adialysates hervorgeht. (Auf 100 g Ausgangsmaterial kam bloß 0,00034 g Asche.)

Hervorgehoben sei ganz besonders mit Rücksicht auf die Beobachtung von Melzer, daß die intravenöse Injektion von $CaCl_2$ beim Kaninchen Pupillenverengerung bewirkt, daß auch kalkfrei dialysierter Harn miotisch und hypnotisch wirkt.

Untersuchungen am Kymographion ergaben, daß die Injektion von Adialysat zu lange andauernden Blutdrucksenkungen führt. Die Rectaltemperatur blieb dabei unverändert. Im Reagensglasversuche zeigte es sich, daß das Adialysat die Gerinnung unbedeutend hemmt und die Fähigkeit hat, rote Blutkörperchen in geringem Grade zu hämolysieren. Die Stickstoffbestimmung der Trockensubstanz des Adialysates ergab eine dem Stickstoffgehalte des Eiweißes nahestehende Zahl (15,3%).

Die Tierversuche erbrachten somit einen neuerlichen Beweis für die biologische Wirksamkeit der adialysabeln Stoffe des Harnes, was um so bemerkenswerter ist, als die absolute Menge der zur Injektion kommenden Substanzen sehr gering war. (0,03 g Trockensubstanz, in der, wie weitere Fraktionierungen ergaben, neben wirksamen auch biologisch unwirksame Stoffe enthalten waren, genügten zur Erzeugung einer deutlichen Wirkung.)

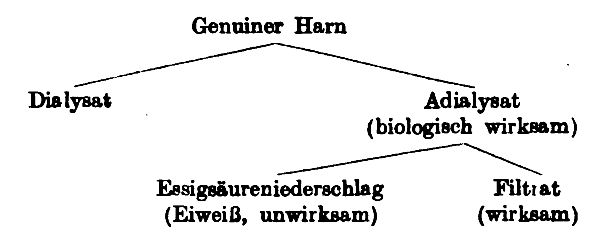
Es war nun zu versuchen, die wirksame Substanz zu isolieren und sie chemisch zu charakterisieren. Eine Lösung dieser Aufgabe gelang jedoch in der gehofften Weise nicht. Immerhin konnte das Adialysat durch Fällung mit Essigsäure weiter in einen biologisch unwirksamen Niederschlag und in ein wirksames Filtrat fraktioniert werden.

Der Niederschlag, der das normale Harneiweiß enthielt, wurde auf seinen Gehalt an Purinbasen untersucht. Wir gingen dabei von folgendem Gedankengang aus. Stammte das normale Harneiweiß aus der Niere, so mußte es als Organeiweiß nucleoproteidhaltig und damit purinbasenliefernd sein; stammte es aus dem Blute, so war zu erwarten, daß bei der Hydrolyse keine Purinbasen gefunden würden. Purinbasen wurden nicht gefunden und damit war die Frage in dem Sinne entschieden, daß das normale Harneiweiß hämatogenen Ursprunges sein dürfte.

Das Filtrat der Essigsäurefällung, das eine Reihe von Eiweißreaktionen ergab, andere, darunter recht wichtige, vermissen ließ,

(vide den experimentellen Teil), wirkte im Tierversuch ganz gleich dem unfraktioniertem Adialysat.

Wir können somit das Ergebnis der Versuche, den Harn zu fraktionieren, in folgender Weise kurz darstellen:



Weitere Versuche, das Essigsäurefiltrat des Adialysates zu fraktionieren, scheiterten, da bei allen weiteren Fällungsversuchen stets Filtrat wie Niederschlag im Tierversuch in gleicher Weise wirksam waren.

Es war nun der Frage näherzutreten, welche Substanzen in dem Essigsäurefiltrat als Träger der Wirksamkeit enthalten waren. Vor allem war an Eiweiß und seine Abbauprodukte zu denken. Das Eiweiß war wohl zum großen Teile durch die Essigsäurefällung entfernt worden, außerdem waren wichtige Reaktionen, wie z. B. die mit Essigsäure und Ferrocyankalium und andere im Essigsäurefiltrat negativ.

Was Eiweißabbauprodukte betrifft, so kamen die Peptone wegen ihrer Eigenschaft dialysabel zu sein nicht in Betracht. Albumosen, deren Nachweis mit der Methode von Devoto versucht wurde, konnten jedoch nicht gefunden werden. Die Möglichkeit, daß es sich um Eiweißabbauprodukte handeln könnte, ist damit jedoch nicht in Abrede gestellt, nur kann es sich nicht um Albumosen oder Peptone handeln.

Ob das wirksame Prinzip an die Fermente des Harnes gebunden ist, an die auch zu denken wäre, kann nicht entschieden werden, da diesbezüglich keine Untersuchungen angestellt wurden. Daß die Miose und Hypnose, die der Injektion folgten, nicht die Folge der Wirkung einer bestimmten Substanz, sondern vielleicht bloß die unspezifische Folge der Injektion von Stoffen, die in kolloidalem Zustand sich befinden, sein könnte, schien a priori unwahrscheinlich. Immerhin wurde durch eigene Versuche sichergestellt, daß andere Kolloide völlig wirkungslos waren. Zu denken war auch an die Möglichkeit, daß die wirksamen Stoffe dem Harne

von der Niere beigegeben sein konnten. Gegen diese Möglichkeit sprach der Umstand, daß die Injektion von Menschennierenextrakt völlig wirkungslos blieb.

Wir mußten auch daran denken, daß das wirksame Prinzip mit den Ermüdungsstoffen (Kenotoxine Weichhardt) identisch oder verwandt sein könnten. Hierzu ist zu bemerken, daß die Steigerung der Dosis zu keinerlei toxischen Symptomen führte.

Das einmal in den Protokollen angeführte Auftreten von Streckkrämpfen, denen der sofortige Tod folgte, ist unter vielen Versuchen eine vereinzelte Beobachtung geblieben und wohl auf eine intravasculäre Gerinnung zurückzuführen. Gelegentlich gingen Tiere 2 Tage nach der Injektion ohne weitere Krankheitssymptome zugrunde.

Schließlich sei noch bemerkt, daß wir, um sicherzustellen, ob die wirksame Substanz hitzebeständig ist oder nicht, Tierversuche mit Adialysat, das im Wasserdampf erhitzt war, anstellten. Die Versuche ergaben jedoch kein einheitliches Resultat.

Unsere Untersuchungen haben somit im Kolloid des normalen Harnes keine Stoffe von starker toxischer Wirkung, wie solche auf Grund früherer Arbeiten zahlreicher Autoren[1]) im Harne angenommen wurden, ergeben; sie zeigen jedoch, daß im Kolloid des normalen Menschenharnes immerhin Stoffe von physiologischer Wirksamkeit vorhanden sind

Experimenteller Teil.

I. Technik der Darstellung des Adialysates.

Zur Dialyse wurden anfänglich, ebenso wie bei meinen früheren Untersuchungen Fischblasencondoms verwendet, deren Brauchbarkeit und Undurchlässigkeit gegen Kolloide mit Kongorotlösungen vor und nach ihrer Verwendung sichergestellt wurde. Da es sich herausstellte, daß eine große Anzahl der Condome a priori durchlässig und damit unbrauchbar war, wurden nach den Angaben Wiechowskis[2]) Dialysierschläuche aus Goldschlägerhäuten dargestellt und verwendet. Die Dialyse erfolgte unter dauerndem Zutropfen destillierten Wassers in das dem Dialysierschlauch möglichst eng angepaßte zylindrische Außengefäß, aus dem der Abfluß durch Heberwirkung konstant erfolgte[3]).

Die Dialyse wurde wesentlich befördert durch die Verwendung eines im Dialysierschlauch rotierenden elektrisch betriebenen Glasrührers. Um

[1]) Literatur vide Pribram l. c. und Malys Jahresberichte für Tierchemie.

[2]) Die ausführliche Mitteilung der Methode erfolgt anderwärts.

[3]) Diesbezüglich siehe Pribram l. c.

die Verpilzung des Harnes und damit ein Unbrauchbarwerden des Schlauches und seines Inhaltes zu verhindern, wurde sowohl dem Harne als der umgebenden Wasserschicht ein Desinfiziens zugesetzt. Verwendet wurde Chloroform, Phenol oder Toluol, welch letzteres sich am zweckmäßigsten erwies. Für spätere Versuche käme vielleicht wegen seiner oligodynamischen Wirkung die Einbringung eines Metalles in das Wasservorratsgefäß in Betracht.

Es wurde entweder der genuine Harn dialysiert, dann eingeengt und abermals dialysiert, oder es wurde primär eine größere Menge Harnes (zur Verwendung kamen Harnquanten bis zu 20 l) noch vor der Dialyse eingeengt. Die Einengung geschah um jedes, der biologischen Wirkung etwa schädliches Erhitzen zu vermeiden, in flachen Schalen bei Laboratoriumstemperatur durch Abblasen im Luftstrome[1]).

Verwendet wurde durchwegs Menschenharn, der von nicht fiebernden, nicht venerisch infizierten, nieren- und stoffwechselgesunden Männern stammte. Als Endpunkt der Dialyse wurde die Chlorfreiheit des Dialysates angesehen. Freilich fanden sich in diesem Stadium manchmal geringe Mengen von Kalk und Phosphat im Adialysat vor, doch zeigte die Aschebestimmung, daß die Menge derselben minimal war.

Bei Dialyse des genuinen Harnes war die nötige Dauer meist etwa 24 Stunden und etwas mehr, bei Verwendung eingeengten Harnes war die Dauer der Dialyse beträchtlicher, da das Steigen des Schlauchinhaltes die Dialyse verzögerte. Die Menge des zur Dialyse von etwa 2,5 l Harn nötigen Wassers belief sich auf etwa 55 l.

Das Adialysat war gelblich gefärbt und etwas trübe. Es blieb also vom Harnfarbstoffe etwas als adialysabel zurück. War zur Desinfektion Phenol verwendet worden, so war das Adialysat wesentlich dunkler.

II. Die Fraktionierung der Harnkolloide, ihre Reaktionen und die ihrer Fraktionen.

a) Reaktionen des Harnkolloids:

Folgende Reaktionen wurden als vorhanden gefunden: die Millonsche, die Biuretreaktion, die Fällung mit Essigsäure, mit Phosphorwolframsäure, die Hitzekoagulation mit Salzzusatz, die Aussalzbarkeit mit schwefelsaurem Ammon.

b) Die Fraktionierung des Adialysates und Reaktionen der Fraktionen.

Das Adialysat wurde nach Austasten der hierzu erforderlichen Menge mit 2 n-Essigsäure gefällt. Das Filtrat dieser Fällung, das für die Anstellung von Tierversuchen anfänglich mit Alkali neutralisiert, später statt dessen säurefrei dialysiert wurde, verhielt sich bezüglich seiner Reaktionen folgendermaßen.

Positive Reaktionen: Die Reaktionen von Molisch, Adamkiewicz, Pauli, Folin, Millon, die Biuretreaktion, Fällung mit Bleiessig, Tannin, gesättigter Lösung von schwefelsaurem Ammon, absolutem Alkohol, Jodquecksilberkalium, Phosphorwolframsäure, kolloidalem Eisenhydroxyd.

---

[1]) Wiechowski, Biochem. Zeitschr. 81, 278. 1917; daselbst Beschreibung des Apparates.

Negative Reaktionen: Fällung mit Pikrinsäure, Bleizucker, Ferrocyankalium und Essigsäure, die Probe mit Dimethylparamidobenzaldehyd, die Prüfung auf abspaltbaren Schwefel, die Hitzekoagulation.

Die häufig an sich trübe Lösung wurde durch Zusatz von Essigsäure, Soda, Äther geklärt. Gewöhnlicher Alkohol ergab nach primärer Aufhellung nach weiterem Zusatz eine Fällung.

Der Versuch, durch Ausätherung größere Mengen ätherlöslicher Bestandteile zu erhalten, hatte ein negatives Resultat. Die Prüfung des Harnkolloids, das aus 2,5 l Originalharn dargestellt war, auf seinen Gehalt an Albumosen (Methode von Devoto) hatte ein negatives Ergebnis.

c) Trockensubstanz-, Asche- und Stickstoffbestimmungen.

5 ccm Adialysat ergaben 0,0176 g Trockensubstanz, d. h. berechnet auf 100 ccm Adialysat 0,352 g und auf 100 ccm Originalharn 0,02 g. 10 ccm Adialysat hatte einen Aschegehalt von 0,0006 g, d. h. in 100 g Trockensubstanz war 1,7 g Asche.

Der Stickstoffgehalt des Adialysates betrug: in 0,0352 g Trockensubstanz 0,0054 g N, d. i. 15,3%, d. h. in 100 ccm Originalharn waren 0,0036 g adialysabler Stickstoff.

Die Trockensubstanzbestimmung des Essigsäurefiltrates des Adialysates ergab:

In 1 ccm war 0,015 g Trockensubstanz, d. h. berechnet auf 100 ccm Originalharn 0,00825 g.

Die Prüfung des Adialysates auf seine Einwirkung auf die Blutgerinnung und auf seine hämolytische Fähigkeit ergab folgendes.

Tabelle I. Gerinnungsversuch.

Adialysat ccm	Kaninchenblut ccm	Physiol. NaCl ccm	Gerinnung Beginn.	Gerinnung Komplett
0,1	1	ad 2,5	20 Min.	24 Min.
0,25	1	„ 2,5	45 Min.	55 Min.
0,5	1	„ 2,5	55 Min.	4 Stunden
1,0	1	„ 2,5	Keine Gerinnung nach 18 Stunden	
1,5	1	θ		
0	1	0,1	Kontrolle komplette Gerinnung nach 20 Minuten	
0	1	0,5		
0	1	1,5		

Tabelle II. Hämolyseversuch.

Adialysat ccm	Kaninchen-erythr. 5% ccm	Physiol. NaCl ccm	Hämolyse, nach 12 Stunden
0	1	ad 3	0
0,1	1	„ 3	0
0,5	1	„ 3	±
1,0	1	„ 3	+
2,0	1	θ	+

III. Tierversuche.

(Auszugsweise Wiedergabe einzelner Protokolle.)

1. Das Adialysat von 250 ccm Harn wurde zur Trockne abgeblasen, der Rückstand in Ringerlösung aufgelöst, das ungelöst Gebliebene abfiltriert. 10 ccm hiervon, entsprechend 125 ccm Originalharn wurde einem ca. 2 kg schweren Kaninchen in die Ohrvene injiziert. Unmittelbar nach der Injektion eine Miose von 15 Minuten Dauer. Sonst wurde nichts Pathologisches am Tiere beobachtet.

2. 9 ccm Adialysat, von einem Trockensubstanzgehalt von 0,0318 g, entsprechend 158 ccm Originalharn, wurde einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert.

Nach 5 Minuten Miose und Entrundung der Pupillen. Schlafzustand. Das Tier nimmt Seitenlage ein, zeigt eine Lähmung der hinteren Extremitäten. Stoßweise Atmung. Entleerung von weichem Stuhl. Nach einer Dauer von 15 Minuten sind die Pupillen wieder normal weit. Rückgang der übrigen Symptome.

3. 2 ccm derselben Lösung wurde einer Rana temporaria von 38 g Gewicht in den Brustlymphsack gespritzt. Kein Effekt.

4. 1 ccm derselben Lösung wurde einer weißen Maus intraperitoneal injiziert. Kein Effekt.

5. 10 ccm derselben Lösung wurde einem Kaninchen von 1850 g intravenös injiziert. Versuch am Kymographion. Urethannarkose, 1 g pro kg. Unmittelbar nach der Injektion Miose, die 11 Minuten andauerte. Gleichzeitig Auftreten einer beträchtlichen Blutdrucksenkung. Vertiefung der Atmung.

6. Kontrollversuch mit der Lösung eines anderen Kolloids. Kaninchen. Intravenöse Injektion von einer 0,34 proz. Gummilösung. Keine Wirkung.

7. Ebenso. Intravenöse Injektion einer 0,34 proz. Gelatinelösung. Keine Wirkung.

8. Kontrolle. Intravenöse Injektion einer 1 proz. Lösung von Wittepepton. Keine Wirkung.

9. Kontrolle. Intravenöse Injektion von Menschennierenextrakt, welcher auf den Trockensubstanzgehalt des Harnkolloids gebracht worden war. Keine Wirkung.

10. 10 ccm Essigsäurefiltrat, entsprechend 175 ccm Originalharn wurde schwach alkalisch gemacht und einem Kaninchen in die Ohrvene injiziert.

Nach 11 Minuten Miose, Muskelzittern, Harnlassen.

Nach 3 Minuten Miose maximal.

Nach 4 Minuten vorübergehend Seitenlage.

Nach 10 Minuten dauernde Seitenlage. Miose geringer.

Nach 12 Minuten Reaktionslosigkeit gegenüber mechanischer Reizung der Extremitäten.

Nach 20 Minuten Schlaf, ruckweises Atmen, Frequenz 200.

Nach 25 Minuten Pupillen normal, allmähliches Nachlassen der übrigen Symptome.

Nach 1 Stunde ist das Tier wieder ganz normal.

11. Der bei der Essigsäurefällung erhaltene Niederschlag wurde gewaschen, in $^1/_{10}$ n-Kalilauge gelöst, mit $^1/_{10}$ n-Schwefelsäure auf leichte Alkalescenz gebracht. Die intravenöse Injektion von 10 ccm, entsprechend 175 ccm Harn, bei einem Kaninchen war wirkungslos. Beobachtungsdauer 90 Minuten.

12. Das Essigsäurefiltrat wurde säurefrei dialysiert und 10 ccm, entsprechend 175 ccm Harn, intravenös einem Kaninchen injiziert. Sofort Miose. Nach 4 Minuten Seitenlage. Nach 5 Minuten Augenblinzeln. Hypnose von der Dauer von etwa 30 Minuten. Temperatur, gemessen im Rectum vor und während des Versuches, gleich (40,3°).

13. 10 ccm derselben Lösung wurden einem Kaninchen intravenös injiziert. Kymographionversuch. Nach 1 Minute Miose. Starke Blutdrucksenkung, Pulsverlangsamung.

14. Intravenöse Injektion des Essigsäurefiltrates. 2 ccm, d. i. 0,0153 g Trockensubstanz. Kein Effekt. Nach einer halben Stunde neuerliche Injektion von 5 ccm derselben Lösung. Sofort Miose, Streckkrämpfe, verlangsamteAtmung, Exitus. Obduktionsbefund: Gravidität. Im Herzen ziemlich viele Thromben.

15. Säurefrei dialysiertes Essigsäurefiltrat. Intravenöse Injektion bei einem Kaninchen. 10 ccm, entsprechend 200 ccm Originalharn.

Nach $^1/_2$ Minute deutliche Miose. Keine Hypnose.

Nach 20 Minuten neuerliche Injektion von 8 ccm derselben Lösung. Sofort maximale Miose.

Nach 3 Minuten Atembeschleunigung. Das Tier legt sich nieder, läßt sich umherrollen.

Nach 11 Minuten setzt sich das früher in Seitenlage befindliche Tier spontan auf, läßt sich jedoch leicht wieder in Seitenlage bringen. Nach 21 Minuten ist die Hypnose vorüber.

Am nächsten Tage hat das Tier keine Freßlust. Am 2. Tage ist das Tier wieder munter. Am 3. Tage Exitus. Obduktionsbefund: Thromben in dem Herzen. Marmorierung der Leber. Exsudat in Pleura und Peritoneum.

16. 15 ccm derselben Lösung werden 1 Stunde auf dem Wasserbad erhitzt. Intravenöse Injektion an einem Kaninchen. Geringe Miose. Vielleicht etwas Schlaffheit der unteren Extremitäten.

17. 15 ccm derselben Lösung werden durch eine Stunde auf 92° erhitzt. Intravenös einem Kaninchen injiziert. Keine Wirkung. Am nächsten Tag Exitus. Sektionsbefund negativ.

18. Fällung des Essigsäurefiltrates mit gesättigter Lösung von Ammonsulfat. Waschen des Niederschlages mit Ammonsulfatlösung. Lösung des Niederschlages in Wasser. Wegdialysieren des Ammonsulfates. und Einengung. Intravenöse Injektion bei einem Kaninchen ergibt Miose, aber keine Hypnose.

19. Intravenöse Injektion des salzfrei dialysierten Ammonsulfatfiltrates. Miose.

20. Fällung des Essigsäurefiltrates mit kolloidalem Eisen. Filtrat einem Kaninchen intravenös injiziert ergibt: Miose.

21. Fällung des Essigsäurefiltrates mit Alkohol. Befreiung des Niederschlages vom Alkohol durch Abblasen zur Trockne. Lösung in Wasser. Intravenöse Injektion bei einem Kaninchen. Miose.

22. Analoger Versuch mit dem Alkoholfiltrat. Miose.

IV. Untersuchung des durch Fällung mit Essigsäure aus dem Adialysat erhaltenen Niederschlages.

Der durch Fällung mit Essigsäure aus dem Adialysat erhaltene Niederschlag wurde mit Schwefelsäure hydrolysiert und dann nach Krüger und Schmid auf Purinbasen untersucht. Bei Untersuchung des Eiweißniederschlages aus 5 l Harn wurde kein Purinbasenstickstoff gefunden.

Beitrag zur Kenntnis der Wirkung des Kohlenoxyds.

Von

M. Kochmann.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Halle.)

(Eingegangen am 9. August 1920.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es bestehen bekanntlich zwei Ansichten über den Mechanismus der Kohlenoxydwirkung auf den tierischen Organismus. Die eine spricht sich dahin aus, daß die beobachteten Giftwirkungen lediglich die Folge der Verdrängung des Sauerstoffs aus der Hämoglobinverbindung seien. Da, wie Lewin[1]), einer der strengsten Vertreter dieser Meinung, es ausdrückt, das Kohlenoxydhämoglobin nicht imstande ist, den Sauerstoff zu transportieren, so entstehen je nach dem benötigten Funktions- bzw. Existenzsauerstoff vitale Minderleistungen oder krankhafte Veränderungen.

Die andere Ansicht geht dahin, daß das Kohlenoxyd neben der Blutveränderung und ihren Folgen auch noch einen unmittelbaren Einfluß auf das lebende Protoplasma, insbesondere die Zellen des Zentralnervensystems ausübe. Die Beweise für und gegen diese Ansichten hat Lewin in seinem schon genannten Buche zusammengestellt.

Eine Wirkung auf das Nervensystem wurde besonders aus den Versuchen gefolgert, in denen Frösche in einer Kohlenoxydatmosphäre sehr viel schneller zugrunde gehen, als bei Einatmung eines indifferenten Gases. Eine zufällige Beobachtung legte mir den Gedanken nahe, diese Angaben einer Nachprüfung zu unterziehen. Frösche wurden unter eine Glasglocke gesetzt, die vollkommen mit Wasser gefüllt wurde. Die Glasglocke trägt oben einen einfach durchbohrten Gummistopfen, durch den ein Glas-

[1]) L. Lewin, Die Kohlenoxydvergiftung, Berlin 1920.

rohr hindurchführt. Dieses stellt die Verbindung mit dem das Kohlenoxyd enthaltenden Gasometer her. Das Wasser der Glasglocke wird nunmehr durch Kohlenoxyd verdrängt, das durch Erhitzen von Oxalsäure mit Schwefelsäure dargestellt wurde. Das sich entwickelnde Gas, ein Gemisch von Kohlensäure und Kohlenoxyd wurde durch eine Waschflasche mit starker Kalilauge geleitet, um die Kohlensäure abzufangen. Die Frösche, die sich in einem derartigen Kohlenoxyd befanden, wurden im Verlauf von 10—15 Minuten zentral gelähmt, während Frösche, die in einer Atmosphäre reinen Wasserstoffs atmeten, erst nach zwei Stunden Lähmungserscheinungen zeigten.

Es zeigte sich jedoch, daß durch eine mit Kalilauge gefüllte Waschflasche die Kohlensäure nicht vollkommen abzufangen war. Mit Hilfe der Hempelbürette wurde festgestellt, daß das Kohlenoxyd noch etwa 15% Kohlendioxyd enthielt. Selbst drei hintereinander geschaltete, mit Kalilauge beschickte Waschflaschen verminderten den Kohlendioxydgehalt nur auf etwa 5%, und erst durch mehrmaliges Waschen des sich entwickelnden Gasgemisches, das ganz langsam zwei- bis dreimal hintereinander durch je drei frischgefüllte Kalilaugevorlagen von einem Gasometer zum anderen gedrückt wurde, gelingt es, ein Kohlenoxyd zu erhalten, das bis auf nicht mehr meßbare Spuren frei von Kohlendioxyd ist.

Werden nun die Frösche, Rana fusca, in ein derartig gereinigtes Kohlenoxyd eingebracht, so zeigen sie, ebenso wie in einer reinen Wasserstoffatmosphäre, erst nach ungefähr zwei Stunden die Erscheinungen einer zentral bedingten, vollkommenen Lähmung, die nach Verbringen der Tiere in atmosphärische Luft in wenigen Minuten wieder verschwinden.

Wenn frühere Untersucher eine stärkere Giftwirkung des Kohlenoxyds sahen, so ist das zweifellos auf die Verunreinigung des Kohlenoxyds mit Kohlendioxyd zurückzuführen, das schon in verhältnismäßig kleinen Konzentrationen eine lähmende Wirkung ausübt.

Versuch 1: R. fusca. 15 g.

11h 5′ Füllung der Glocke mit Kohlenoxyd, das einmal gewaschen, noch 15% Kohlensäure enthält.

11h 7′ schwerfällige Bewegungen.

11h 8′ Vorderkörper auf die senkrecht ausgestreckten Vorderbeine gestützt, hoch erhoben, dyspnoische Atembewegungen mit offenem Maul.

11^h 17′ beim Springen Rückenlage, die nur mit Mühe aufgegeben wird.
11^h 20′ schlaffe Haltung, Maul offen, unbeweglich, reflexlos.
11^h 27′ Herz steht, Reizung des Ischiadicus ergibt Zuckung.

Versuch 2: R. fusca 17 g.
4^h 12′ kohlendioxydfreies CO in der Glocke.
4^h 45′ sitzt aufrecht, spontane Bewegungen, schnappt nach Luft.
5^h 15′ dyspnoische Atmung, spontanes Springen, aber schwerfällige Bewegungen.
5^h 37′ das Tier wird schlaffer, auf Reiz Bewegungen.
6^h 10′ vollkommene Lähmung, Reflexe erloschen, Herz schlägt ziemlich kräftig.
6^h 45′ vollkommen erholt.

Versuch 3: R. fusca 16 g.
11^h Glocke mit reinem Wasserstoff gefüllt.
11^h 30′ schlaffe Haltung des Frosches und ungeschicktes Springen.
11^h 45′ schnappt nach Luft.
12^h Verharren in unbequemer Lage, spontanes Springen, wenn auch etwas ungeschickt.
12^h 25′ schlaffe Bauchlage, spontanes Springen, Hinterbeine werden schlecht angezogen.
12^h 35′ ungeschickte Fluchtversuche.
12^h 45′ vollkommene Reflexlosigkeit, Herz schlägt, Erholung.

Um die Frage von einer spezifischen Giftwirkung des Kohlenoxyds weiter zu klären, wurden noch Versuche an Kaulquappen



Abb. 1. Einwirkung von CO_2-haltigem Kohlenoxyd auf das isolierte Froschherz. Schädigung durch das Gift. Erholung nach Abstellung der Giftzufuhr.

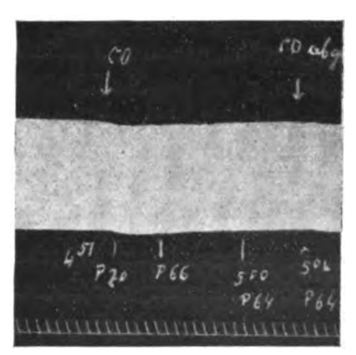


Abb. 2. Einwirkung von reinem CO. Keine Veränderung.

und am isolierten Froschherzen angestellt. Dabei zeigte sich, daß 13 mm lange Kaulquappen bei Durchleiten von kohlensäurefreiem Kohlenoxyd keinerlei Veränderungen aufweisen. In ungereinigtem Kohlenoxyd, mit etwa 15% Kohlensäure, tritt nach etwa 15 Minuten unvollkommene Lähmung auf.

Die Versuche am isolierten Herzen wurden nach der Straubschen Methode angestellt; das Kohlenoxyd wurde durch die zur Füllung benutzte Ringerlösung in raschem Strom hindurchgeschickt oder in starkem Strom durch die feuchte Kammer geleitet, in der das Herz aufgehängt ist. Auf diese Weise befand sich das Herz in Kohlenoxydatmosphäre ohne Luftbeimengung. In manchen Versuchen wurde während der Kohlenoxydzuleitung der Sauerstoff abgestellt, in anderen gleichzeitig Sauerstoff durch die Ringerlösung geschickt. Auch bei diesen Versuchen konnte das gleiche beobachtet werden wie am ganzen Frosch und an den Kaulquappen: Nur wenn das Kohlenoxyd Kohlendioxyd enthält, läßt sich eine Schädigung des Froschherzens feststellen. Sonst, bei Durchleitung von gereinigtem Kohlenoxyd, blieben Pulsgröße und Frequenz unverändert.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen, daß außer der Wirkung auf das Blut andere spezifische Giftwirkungen des Kohlenoxyds sich nicht nachweisen lassen.

Im Anschluß daran wurde noch die Frage experimentell untersucht, ob im Leuchtgas die Kohlensäure an der Giftwirkung beteiligt sei. Das zu den Versuchen benutzte Leuchtgas hat folgende Zusammensetzung:

CO	14,7	$CH_2 = CH_2$.	1,6
CO_2	4,4	O	1,1
CH_4	17,74	N	14,19
C_6H_6	0,8	H	45,67

Frösche, die unter eine mit Leuchtgas gefüllte Glasglocke gebracht werden, gehen sehr schnell, in etwa 20 Minuten, zugrunde. Die Lähmung ist gewöhnlich irreversibel, wenn die Tiere nicht schon vor Eintritt einer vollkommenen Lähmung aus der Glocke herausgenommen werden. Auch nach sorgfältiger Entfernung der Kohlensäure werden die Tiere, wenn auch etwas langsamer als in unverändertem Leuchtgase, irreversibel gelähmt, sterben also. Erst nach mehrmaligem Waschen des Leuchtgases mit Bromwasser und Entfernung der Bromdämpfe mit Kalilauge zeigen die Frösche eine zentral bedingte, reversible Lähmung, die nicht früher auftritt als auch sonst in reinem Kohlenoxyd oder Wasserstoff.

Versuch 4: R. fusca 18 g.

5^h 15′ Beginn der Leuchtgaseinatmung (Leuchtgas unverändert).
5^h 35′ vollkommene Lähmung nach vorausgegangener Dyspnöe.

Versuch 5: R. fusca 12 g.

11^h 23′ Beginn der Einatmung des CO_2-freien Leuchtgases.
11^h 30′ schwerfälliges Springen, schlaffe Haltung.

11h 47' Versuch sich aufzurichten mißlingt, Rückenlage kann nur nach langem Bemühen in die Bauchlage verwandelt werden.
12h 10' vollkommene Lähmung, Erholung tritt nicht ein.

Versuch 6: R. fusca 18 g.

11h 54' Beginn der Einatmung von Leuchtgas, das von Kohlensäure durch Kalilauge befreit ist, und das zur Entferung des Acetylens und der sog. schweren Kohlenwasserstoffe sorgfältigst mit Bromwasser lange Zeit geschüttelt war. Die Bromdämpfe wurden durch Kalilauge entfernt.
12h Schlaffe Haltung, zeitweises Verharren in unbequemer Stellung.
12h 10' Atmung mit offenem Maul, Dyspnöe.
12h 35' schlaffere Haltung, schwerfällige Bewegungen, Hinterbeine mit Mühe angezogen.
2h 10' reflexlos, vollkommene Lähmung, Erholung in atmosphärischer Luft.

Die Frage, ob die durch Kalilauge entfernbare Kohlensäure und die durch Bromwasser absorbierbaren Körper, Acetylen und die sog. schweren Kohlenwasserstoffe, an der Leuchtgasvergiftung des Menschen beteiligt sind, war nicht Gegenstand der Untersuchung. Vahlen[1]) hat die Frage, ob neben dem Kohlenoxyd noch andere Substanzen in Betracht kommen, bekanntlich bejaht, Kunkel[2]) sie entschieden verneint. Der Unterschied zwischen den geschilderten Versuchen am Frosch und den wirklich vorkommenden Leuchtgasvergiftungen am Menschen sind sehr erhebliche. Die Frösche befanden sich in einer reinen Leuchtgasatmosphäre, frei von atmosphärischem Sauerstoff, die Menschen atmen in der atmosphärischen Luft, der verhältnismäßig geringe Mengen Leuchtgas beigemischt sind. Da schon 2‰ Kohlenoxyd in der Luft zu tödlichen Vergiftungen Anlaß geben können, so genügen bei einem Kohlenoxydgehalt des Leuchtgases von 10—15% Leuchtgasluftmischungen, die 1,3—2% Leuchtgas enthalten. In diesen befinden sich aber nur noch Spuren von Kohlensäure, 0,06—0,09%, und etwa 0,04% schwere Kohlenwasserstoffe. Das sind so geringfügige Mengen, daß sie für die Giftwirkung des Leuchtgases kaum bestimmend sein werden. Doch bedarf dieses noch der näheren Untersuchung.

Zusammenfassung.

1. In einer Atmosphäre von reinem Kohlenoxyd werden Frösche in rund 2 Stunden reflexlos, in gewöhnlicher Luft tritt

[1]) E. Vahlen, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **49**, 245. 1903.
[2]) A. J. Kunkel, Sitzber. d. Physik.-med. Ges. Würzburg 1902.

sehr schnell Erholung ein, die Lähmung in reinem Wasserstoff macht sich zur gleichen Zeit bemerkbar.

2. Kaulquappen und das isolierte Froschherz werden durch reines Kohlenoxyd nicht geschädigt.

3. Nur wenn das Kohlenoxyd Kohlendioxyd enthält. werden am ganzen Frosch und am isolierten Organ reversible Lähmungserscheinungen beobachtet.

4. In einer Leuchtgasatmosphäre werden Frösche in 20 Minuten irreversibel gelähmt. Die Geschwindigkeit des Lähmungseintrittes wird zum Teil auf dem Kohlensäuregehalt des Leuchtgases, die Irreversibilität auf Substanzen beruhen, die, wie beispielsweise das Acetylen, durch Bromwasser absorbiert werden.

5. Es ist nicht sehr wahrscheinlich, daß bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse einer Leuchtgasvergiftung die durch Kalilauge und Bromwasser absorbierbaren Körper des Leuchtgases einen praktisch wichtigen Anteil an dem Zustandekommen der Vergiftung besitzen.

Blutgasanalysen. VII.

Der Einfluß von Bor, Aluminium und Lanthan auf Hämoglobin und Zelle.

Von

H. Straub und **Klothilde Meier.**

(Aus der I. medizinischen Klinik der Universität München und der medizinischen Poliklinik der Universität Halle.)

(Eingegangen am 10. August 1920.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Unsere Untersuchungen über die Wirkung der Alkalien und Erdalkalien[1,2] hatten auf eine so weitgehende Gesetzmäßigkeit innerhalb des periodischen Systems der Elemente hingewiesen, daß wir dieselben Versuche auch mit einigen Vertretern der dritten Reihe des periodischen Systems der Elemente durchführten, in der die biologisch weniger wichtigen Erden ihren Platz finden. Während wir es bei den Salzen der Alkalien und Erdalkalien mit Salzen starker Basen zu tun hatten, die elektrolytisch durchweg stark dissoziiert in der Lösung zu denken sind, traf diese Vorstellung bei den nunmehr untersuchten Substanzen nicht mehr durchweg zu. Zwar die Oxyde der seltenen Erden, als deren Vertreter wir das Lanthan wählten, sind starke Basen, nicht aber das Aluminiumhydroxyd, dessen salzsaures Salz dementsprechend zu erheblichem Teil hydrolytisch gespalten in Lösung geht. Um an einer einheitlichen Vorstellung festzuhalten, kann man den Vorgang der Lösung von Salzen in unsern Versuchen in zwei Vorgänge trennen und kann sagen, daß zuerst die Oxyde bzw. Hydroxyde des zu prüfenden Elementes in Lösung gegeben wurden, und daß dann je nach Bedarf mit Salzsäure neutralisiert wurde. Das so erreichte Endergebnis entspricht dem

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 98, 228. 1919.
[2]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 109, 47. 1920.

tatsächlich hergestellten Zustand chemisch und physikalisch vollkommen. Die gewählte Anschauungsweise hat aber den Vorzug, daß sie auch für solche Hydroxyde ausreicht, die nicht die Eigenschaften starker Basen besitzen, also für das in den folgenden Versuchen vorkommende Aluminiumhydroxyd, das unter entsprechend gestalteten, im vorliegenden Falle allerdings nicht vorkommenden Versuchsbedingungen, als Säure auftreten und mit starken Basen Salze, Aluminate, bilden kann. Bei der in unsern Versuchen herrschenden Wasserstoffzahl sind diese Salze nicht beständig, das Aluminiumhydroxyd hat vielmehr noch basische Eigenschaften. Größere Bedeutung erlangt unsere Betrachtungsweise aber, wenn wir die Untersuchungen auch auf das zuvorderst in der dritten Reihe des periodischen Systems stehende Bor ausdehnen und zusehen, was sich ereignet, wenn wir dessen Hydroxyd, die Borsäure, unseren Blutlösungen zufügen. Das Borhydroxyd hat etwas stärker saure Eigenschaften als das Aluminiumhydroxyd und wird deshalb als Borsäure bezeichnet (H_3BO_3). Die Bezeichnung ist etwas irreführend, denn die sauren Eigenschaften dieser Substanz sind so schwach, daß die Borsäure bei den von uns untersuchten Wasserstoffzahlen so gut wie vollkommen undissoziiert ist, d. h. weder saure noch basische Eigenschaften entfaltet, weder Wasserstoffionen noch Hydroxylionen abspaltet. Durch Zufügen von Borsäure vermehren wir also den Gehalt der Lösung um einen Nichtelektrolyten und brauchen zu seiner Neutralisation weder Säure noch Basen zuzufügen. Unsere Betrachtungsweise ist ungewöhnlich und umständlich. Sie hat nur dann einen Sinn, wenn es sich herausstellt, daß die Borsäure im Prinzip ebenso wirkt wie das ihr nachfolgende Aluminiumhydroxyd, oder vielmehr wie das tatsächlich zugesetzte Salz Aluminiumchlorid, bei dem wir uns die schwach basischen Eigenschaften des Hydroxyds durch Salzsäure neutralisiert dachten.

Die folgenden Versuche konnten nicht so vollständig durchgeführt werden wie die bisher mitgeteilten. Zwar ließ sich die Wirkung der drei zu prüfenden Stoffe Borsäure, Aluminiumchlorid und Lanthanchlorid auf das Hämoglobin in der bisher geübten Weise feststellen, aber die Versuche an Zellsuspensionen konnten nur lückenhaft gestaltet werden. Das Aluminiumsalz fiel wegen seiner schon bei niedrigen Dosen stark hämolysierenden

Wirkung aus. Von Lanthan konnten aus demselben Grunde nur ganz niedrige Konzentrationen untersucht werden. Auch dabei ergaben sich Schwierigkeiten, da die roten Blutkörperchen beim Waschen stark agglutinierten. Im Mikroskop waren die Zellen wohl erhalten, auch ließen sich die agglutinierten Massen zu einer gleichmäßigen Suspension aufschütteln, aber namentlich nach Zusatz von etwas Kohlensäure wurde die Lösung zu einer dicken Gallerte, die beim Schütteln Luftblasen in sich festhielt und schließlich so dickflüssig wurde, daß sie nicht mehr aus den Pipetten floß. Die Gasanalysen wurden dadurch unmöglich. Ein Waschversuch mit einem Gehalt der Suspensionsflüssigkeit von 0,02 Mol Lanthanchlorid konnte aus diesem Grunde überhaupt nicht durchgeführt werden. Auch bei niedrigeren Lanthankonzentrationen wurden mit steigender Kohlensäurespannung die weiteren Gasanalysen schließlich unmöglich. Offensichtlich ist die Agglutination der Blutkörperchen darauf zu beziehen, daß sie, wie wir zeigen werden, bei Gegenwart von Lanthansalzen in geeigneter Konzentration sofort oder nach Zufügung sehr geringer Kohlensäuremengen ihre Ladung verlieren, die das Zusammenballen verhindert. Wir müssen es uns versagen, hier näher auf die bemerkenswerte Gallertbildung einzugehen. Die Beobachtung erinnert durchaus an analoge Erscheinungen anorganischer Gallerten. Z. B. kann eine wässerige Lösung von Aluminiumhydroxyd durch Zusatz geringer Mengen von Säuren, Alkalien und vieler Salze in die unlösliche, gallertartige Form verwandelt werden.

Wir teilen zunächst die Ergebnisse unserer Versuche mit:

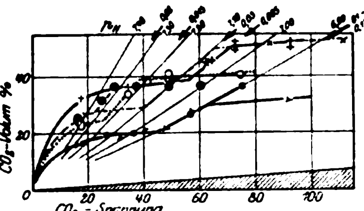
I. Borsäure.

a) Hämolyseversuche.

Schon früher[1]) hatten wir in einem Versuche die Wirkung der Orthoborsäure auf die Lage des Hämoglobinknicks geprüft und bei einer Konzentration der Säure von ca. 0,03 Mol eine deutliche Verschiebung nach der basischen Seite festgestellt. Seit wir den starken Einfluß der Konzentration kennengelernt haben, halten wir eine Ergänzung mit Variation der Versuchsbedingungen für unentbehrlich. Setzt man zu defibriniertem Blute 0,005 Mol Borsäure zu und hämolysiert mit Saponin (Tabellen Nr. 1, Abb. 1, stehende Kreuze, ausgezogene Kurve), so findet sich der Knick schon deutlich nach der basischen Seite verschoben, bei $p_H = 7{,}07$. Verdrei-

[1]) H. Straub u. Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

fachung des Borzusatzes auf 0,015 Mol (Tabellen Nr. 2, Abb. 1, Ringe, punktierte Kurve) verschiebt noch bedeutend weiter im Sinne des Prinzips b, auf $p_H = 7{,}23$. Mit einer Konzentration von 0,02 Mol (Tabellen Nr. 3 u. 4, Abb. 1, Kreuzringe, gestrichelte Kurve) erreicht die Rechtsverschiebung ihr Maximum. Der Knick liegt bei $p_H \doteq 7{,}33$ bzw. 7,31; 7,29; 7,29 im einen und 7,36 bzw. 7,34 im andern Versuche. Hier fügt sich der frühere Versuch ein [Tabellen der früheren Mitteilung[1]) Nr. XXIII, den wir in Abb. 1 aufgenommen haben, liegende Kreuze, strichpunktierte Kurve]. Die im Knick liegenden Punkte haben die $p_H = 7{,}12$; 7,09; 7,07; 7,08. Die bei den Erdalkalien gemachte Erfahrung wiederholt sich also auch beim Bor. Mit steigender Konzentration macht sich zunächst das nach der basischen Seite verschiebende Prinzip b immer mehr geltend bis zu einem Maximum. Erhöht man die Konzentration noch weiter, so beginnt das antagonistische Prinzip a wirksam zu werden. In der Tat kommt mit weiterer Steigerung der Konzentration das Prinzip a noch mehr zur Geltung. Bei einer Konzentration von 0,1 Mol überwiegt es schon über das Prinzip b, so daß eine Rechtsverschiebung der Lage des Knicks auftritt. (Tabellen Nr. 5, Abb. 1, Punkte, ausgezogene Kurve.) p_H liegt bei 6,89 bzw. 6,90. Weitere Erhöhung der Borsäurekonzentration auf 0,133 Mol (Tabellen Nr. 6, Abb. 1, Dreisterne, ausgezogene Kurve) ändert an der Lage des Knicks nichts mehr, $p_H = 6{,}88$ bzw. 6,91.



+——+ Tabellen Nr. 1. H_3BO_3 0,006 Mol.
○······○ Tabellen Nr. 2. H_3BO_3 0,015 Mol.
⊕- - - -⊕ Tabellen Nr. 4. H_3BO_3 0,02 Mol.
×-·-·-× Tab.[1]) Nr. XXIII. H_3BO_3 0,08 Mol.
•——• Tabellen Nr. 5. H_3BO_3 0,1 Mol.
≻——≻ Tabellen Nr. 6. H_3BO_3 0,188 Mol.

Abb. 1. Kohlensäurebindungskurve von Hämolyseblut mit Zusatz von Borsäure Abszisse: Partiardruck der Kohlensäure in mm Hg. Ordinate: Kohlensäurekapazität in Volumprozenten. Schraffiertes Dreieck am Unterrande: physikalisch absorbierte Kohlensäure. Die von der linken unteren Ecke ausgehenden Kurven verbinden Punkte gleicher Wasserstoffzahl.

Bei der Zusammenstellung der Versuchsergebnisse erschienen uns die eben mitgeteilten Feststellungen prinzipiell so wichtig, daß wir sie durch Wiederholung sicherzustellen suchten. Wir gingen deshalb im Juli 1920 daran, die eben mitgeteilten, vorwiegend im Juli 1919 angestellten Versuche zu wiederholen. Prinzipiell erhielten wir dieselben Ergebnisse wie das erstemal. Allein zu unserem Erstaunen wurde die maximale Linksverschiebung bei einer anderen Dosierung erreicht wie in der ersten Versuchsreihe. Während wir in der ersten Reihe die Verschiebung auf $p_H = 7{,}32$ mit 0,02 Mol Borsäure erhalten hatten, kamen wir auf etwa denselben Wert in der neuen Versuchsreihe schon mit 0,008 Mol (Tabellen Nr. 7 u. 8). Die maximale Verschiebung ist in diesen Versuchen nicht ganz erreicht. Aber weitere Steigerung des Borsäurezusatzes auf 0,01 Mol (Tabellen Nr. 9 u. 10) beginnt den Knick schon wieder nach rechts zu verschieben, die Werte liegen bei $p_H = 7{,}20$; 7,19; 7,16; 7,15 im einen und 7,19; 7,21 im andern Versuch. Mit 0,02 Mol schließlich (Tabellen Nr. 11), also dem Zusatz, der in der ersten Serie die maxi-

---

[1]) H. Straub u. Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

male Linksverschiebung ergeben hatte, ist diesmal die Verschiebung schon vollständig rückgängig geworden, die Punkte im Knick liegen bei p_H = 7,01; 6,98; 7,01; 6,98. In beiden Reihen hatten wir dem Blut die Borsäure in $^1/_3$ molarer Lösung zugesetzt. Nun ist es zweifellos schwer, die genaue Normalität einer Borsäurelösung zu bestimmen. Aber die gefundenen Unterschiede der Wirkungsstärke sind zu groß, um durch kleine Unterschiede in dem Borsäuregehalt der von uns gebrauchten Lösungen erklärt zu werden. Die Borsäure der von uns gebrauchten Lösungen war von verschiedener Herkunft. Es wäre möglich, anzunehmen, daß verschiedene Borsäuren verschiedener Herkunft die von uns nachgewiesene Eigenschaft der Veränderung kolloidaler Ladungen in verschieden hohem Maße besitzen. Als zweite Möglichkeit ist aber in Betracht zu ziehen, daß wir für unsere erste, 1919 durchgeführte Versuchsreihe eine Borsäurelösung benützten, die schon seit 2 Jahren, also seit 1917, von uns gehalten wurde. Man könnte also die beobachtete Erscheinung mit einem Altern der Borsäure bezüglich der geprüften Eigenschaft erklären. Analogien für beide Möglichkeiten sind uns nicht bekannt. Wir werden später prüfen, ob die 1920 von uns gebrauchte Borsäurelösung bei längerer Aufbewahrung an Wirkungsstärke einbüßt und hoffen dadurch später einen weiteren Beitrag zu der Frage liefern zu können.

b) Waschversuche.

Defibriniertes Blut wurde in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, wobei unter Wahrung der Isotonie ein Teil des Salzes durch Borsäure ersetzt wurde. Kleine Borsäurekonzentrationen ergaben nur sehr geringe oder gar keine Verschiebung des Knicks der roten Blutkörperchen. Mit 0,002 Mol (Tabellen Nr. 12) liegt der Knick bei p_H = 6,68, also nicht verändert. Mit 0,01 Mol (Tabellen Nr. 13) findet sich eine ganz geringe Linksverschiebung auf p_H = 6,71. Mit 0,015 Mol, also einer sehr geringen weiteren Konzentrationssteigerung (Tabellen Nr. 14) ist kein Punkt im Knick selbst getroffen, dieser liegt zwischen p_H = 6,84 und 6,64. Mit 0,02 Mol (Tabellen Nr. 15) und 0,03 Mol (Tabellen Nr. 16) tritt eine ganz geringe Rechtsverschiebung ein, Lage des Knicks bei p_H = 6,62 bzw. 6,64; 6,64 und 6,65.

Da uns die Zahl dieser Versuche und die Variation der Konzentration nicht auszureichen schien, haben wir sie 1920 ergänzt und machten mit der neuen Borlösung dieselben Erfahrungen wie bei den oben mitgeteilten Hämolyseversuchen. Auch auf die ganzen Zellen erwies sich die neue Borlösung in viel niedrigeren Dosen wirksam als die alte. Schon mit einem Borsäuregehalt der Waschflüssigkeit von nur 0,00005 Mol (Tabellen Nr. 17) ergab sich eine deutliche Linksverschiebung des Knicks, er lag bei p_H = 6,74; 6,74; 6,78; 6,75; 6,75. Dieselbe Lage des Knicks ergab die vierfach größere Menge 0,0002 Mol (Tabellen Nr. 18). Gefunden wurde für den Knick p_H = 6,74; 6,74. Etwas geringer war die Linksverschiebung mit 0,0005 Mol (Tabellen Nr. 19). Im Knick liegen die Werte p_H = 6,74; 6,70; 6,71; 6,69; 6,71. Nochmalige Verdoppelung des Borsäurezusatzes bringt nun schon die Andeutung einer Rechtsverschiebung, bei 0,001 Mol (Tabellen Nr. 20) liegen im Knick die Punkte p_H = 6,67; 6,67; 6,63. Weitere

Erhöhung des Borzusatzes auf 0,004 Mol (Tabellen Nr. 21) und auf 0,005 Mol (Tabellen Nr. 22) endlich ergibt deutliche Rechtsverschiebung auf die Werte $p_H = 6{,}55$; 6,54; 6,55 bzw. 6,57; 6,56. Damit ist offenbar ein Endwert erreicht.

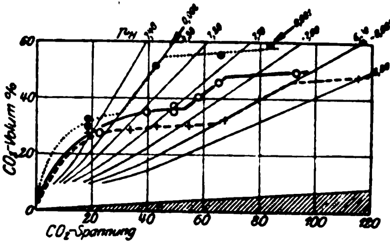
Im Gegensatz zu der am Hämoglobin beobachteten Wirkung ist also die durch kleine Borsäuremengen erreichte Linksverschiebung an den ganzen Zellen eine sehr geringe. Auch bei dieser Versuchsreihe zeigt sich der Unterschied zwischen der alten und der frisch bereiteten Borsäurelösung, und zwar noch viel ausgesprochener als am Hämoglobin. Die alte Lösung bewirkt nur in verhältnismäßig hoher Konzentration, 0,01 Mol, und auch da nur schwach angedeutet eine Linksverschiebung, die bis 6,71 reicht, also die Fehlergrenzen der Methode kaum überschreitet. Die neue Lösung ergibt schon bei Zusatz von 0,00005 und noch deutlicher mit 0,0002 Mol eine Linksverschiebung, die etwas weiter, bis $p_H = 6{,}74$ reicht. An den unversehrten Zellen wird die Wirkung des Prinzips b der Borsäure nur ganz undeutlich oder überhaupt nicht merkbar. In der Literatur wird angegeben, daß die roten Blutkörperchen für Borsäure von allem Anfang an durchgängig seien. Der Begriff der Durchgängigkeit roter Blutkörperchen ist nach unserer Auffassung in Wandlung begriffen. Aber vielleicht weisen die Beobachtungen, die dieser Angabe der Literatur zugrunde liegen, doch darauf hin, daß die Wirksamkeit der Borsäure auf die Zellen Eigentümlichkeiten besitzt, die wir noch nicht ausreichend übersehen. Die scheinbare Unwirksamkeit des Prinzips b der Borsäure in den Versuchen an ganzen Zellen mag vielleicht mit diesen Beobachtungen in irgendeinem Zusammenhang stehen. Das Prinzip a der Borsäure dagegen läßt sich bei geeigneter Dosierung an den intakten Blutkörperchen ebenso nachweisen wie an den Hämoglobinlösungen. Bei der ersten Versuchsreihe mit der alten Borlösung hatten wir diese hohen Konzentrationen nicht mehr prüfen können. Bei den Versuchen mit der frisch bereiteten Borlösung dagegen war die a-Wirkung einwandfrei nachgewiesen. Sie scheint den Knick endgültig bis auf $p_H = 6{,}55$ zu verschieben.

II. Aluminium. Hämolyseversuche.

In unseren früheren Versuchen[1]) hatten wir auch die Wirkung des Aluminiums geprüft und festgestellt, daß dieses Salz in der verwendeten Dosierung eine deutliche Rechtsverschiebung des Hämoglobinknicks hervorruft. Auf die Prüfung anderer Konzentrationen hatten wir im Rahmen unserer damaligen Fragestellung verzichtet. In dem seitdem neu sich ergebenden Zusammenhang haben wir die Lücke ausgefüllt und namentlich die niedrigeren Aluminiumchloridkonzentrationen geprüft. Fügt man defibriniertem Blute 0,001 Mol Aluminiumchlorid zu und hämolysiert durch Saponin (Tabellen Nr. 23, Abb. 2, Ringe, ausgezogene Kurve), so erhält man eine deutliche, aber geringe Verschiebung nach der basischen Seite. Das Prinzip b tritt in Wirkung. Die Wasserstoffzahlen des Knicks liegen bei $p_H = 7{,}06$; 7,06; 7,06. Verdoppelung der Aluminiumkonzen-

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

tration auf 0,002 Mol (Tabellen Nr. 24, Abb. 2, Punkte, punktierte Kurve) läßt nun das Prinzip b sehr stark hervortreten. Der Knick liegt bei $p_H = 7,30$. Schon bei geringer weiterer Steigerung der Aluminiumkonzentration aber auf 0,003 Mol (Tabellen Nr. 25, Abb. 2, Kreuze, gestrichelte Kurve) findet sich eine Rechtsverschiebung. Das antagonistische Prinzip a ist voll zur Wirkung gekommen. Der Knick liegt bei $p_H = 6,90$; 6,905. Bemerkenswert ist bei diesen Versuchen die außerordentliche Labilität des Gleichgewichts, wie sie bisher in dieser Weise noch nicht beobachtet war. Während mit 0,002 Molen noch eine maximale Wirkung des Prinzips b unter sehr starker Linksverschiebung auf $p_H = 7,30$ auftrat, bewirkt schon die ganz geringe Konzentrationssteigerung auf 0,003 Mole maximale Rechtsverschiebung auf $p_H = 6,90$. Trotz der sehr vorsichtigen Steigerung der Dosierung kommt eine dazwischenliegende Anordnung des Knicks mit allmählichem Rückgang der *b*-Wirkung beim Aluminium nicht zur Beobachtung. Sobald a überhaupt wirksam wird, ist seine Wirkung in diesem Falle maximal. Wir zweifeln nicht, daß bei sehr vorsichtiger Steigerung der Dosen auch beim Aluminium eine solche mittlere Lage des Knicks gefunden werden könnte, wie das bei allen bisher geprüften Substanzen der Fall war. Worauf wir aber den Nachdruck legen, das ist die Tatsache, daß das Intervall, in dem bei passender Dosierung ein mittleres Gleichgewicht zwischen Prinzip a und b erhalten wird, bei Aluminium so außerordentlich klein ist. Daß wir mit der Dosis von 0,003 Mol schon das Maximum der *a*-Wirkung erreicht haben, schließen wir aus den früher mitgeteilten Versuchen (1, Tabellen Nr. XXXII und XXXIII). Bei diesen war mit einer Konzentration von 0,01 Mol der Knick bei 6,91; 6,91 und mit einer Konzentration von 0,02 Mol der Knick zwischen 6,93 und 6,88 liegend gefunden worden (im letzten Versuche waren nur je ein Punkt dicht vor und dicht hinter dem Knick bestimmt worden). Die in diesen Versuchen mit viel höheren Konzentrationen bestimmten Werte für die Lage des Knicks stimmen also mit denen des neuen Versuches vollkommen überein.



○——○ Tabellen Nr. 23. $AlCl_3$ 0,001 Mol.
●⋯⋯● Tabellen Nr. 24. $AlCl_3$ 0,002 Mol.
+- - - -+ Tabellen Nr. 25. $AlCl_3$ 0,003 Mol.
Abb. 2. Kohlensäurebindungskurve von Hämolyseblut mit Zusatz von Aluminiumchlorid. Erklärung wie Abb. 1.

III. Lanthan.

a) Hämolyseversuche.

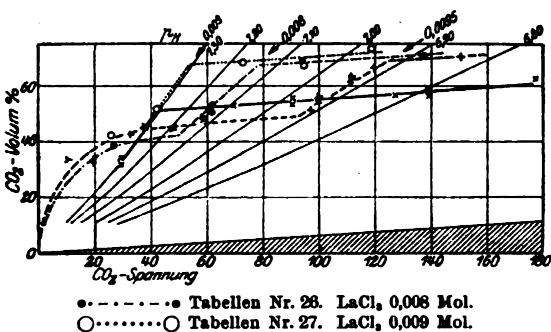
In unserer früheren Mitteilung[1]) hatten wir 3 Versuche über die Wirkung des Lanthanchlorids auf den Hämoglobinknick angestellt, die wir dahin gedeutet hatten, daß Lanthan in niedrigen Dosen nach der basischen Seite verschiebt, also eine Wirkung entfaltet, die wir seitdem als Prinzip b bezeichnet haben. In großen Dosen verschiebt Lanthan nach der sauren

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

Seite, entfaltet also die Wirkung des Prinzips a. Einen bei mittleren Lanthandosen angestellten Versuch hatten wir so verstanden, daß dabei überhaupt kein Knick auftrete, daß also die Entladung des Hämoglobins dabei vollkommen verhindert werde. Die Umgebung des normalen Knicks zwischen 7,09 und 6,70 hatten wir dabei sehr sorgfältig mit 5 Punkten abgesucht und hatten diese Punkte vollkommen in einer geraden Linie liegend gefunden, die der Mehraufnahme von Kohlensäure allein durch Absorption entsprach. Nach unseren damaligen Kenntnissen konnten wir also kaum zu einer anderen Deutung unseres Versuches kommen. Seitdem haben wir aber gefunden, daß viel stärkere Verschiebungen des Hämoglobinknicks auch nach der basischen Seite vorkommen können, als wir damals annahmen. Als wir uns daraufhin die in dem fraglichen Versuche [[1]), Abb. 5, Kurve 2, Tabellen Nr. XXX] gezogene Kurve nochmals ansahen, kamen uns Zweifel, ob wir nicht in dem ersten Teile der Kurve, in dem nur ein Punkt bestimmt wurde, die Kurve falsch gezogen hatten. Die Abb. 5 der damaligen Mitteilung zeigt, daß die Kurve in diesem Teile einen anderen Verlauf nimmt wie die übrigen in die Abbildung aufgenommenen Kurven. Die Kurve dieses Versuchs überkreuzt die anderen. So kamen wir auf die Vermutung, der Knick möchte in Wahrheit nicht fehlen, sondern da liegen, wo wir den ersten Punkt bestimmt hatten, also bei $p_H = 7{,}30$ bzw. 7,29. Wir haben die Kurve, in dieser Weise gezeichnet, in Abb. 3 dieser Mitteilung nochmals aufgenommen. (Liegende Kreuze, ausgezogene Kurve.) Für diese Auffassung des Versuchs spricht auch die Tatsache, daß vom zweiten Punkte ab die Kurve nur mehr parallel dem Oberrande des schraffierten Dreiecks ansteigt, während die Kurven vor dem Knick im allgemeinen einen wenigstens etwas steileren Anstieg zeigen. Um über die Frage endgültige Klarheit zu gewinnen, haben wir in der Nähe der fraglichen Konzentration (0,01 Mol) noch eine Reihe weiterer Versuche angestellt. Der Reihenfolge nach kommt zuerst der Versuch Nr. XXIX der früheren Mitteilung mit einem Zusatz von 0,002 Mol Lanthanchlorid, der in der Abb. 5 der früheren Mitteilung als Kurve 1 dargestellt ist. Er zeigt eine schwache Wirkung des Prinzips b, der Knick liegt bei $p_H = 7{,}035$; 7,04; 7,035. Mit einer Konzentration von 0,008 Mol (Tabellen Nr. 26, Abb. 3 dieser Mitteilung, Punkte, strichpunktierte Kurve) ist das Prinzip b viel stärker wirksam. Lage des Knicks bei $p_H = 7{,}14$; 7,12. Geringe weitere Erhöhung der Lanthankonzentration auf 0,009 Mol (Tabellen Nr. 27, Abb. 3, Ringe, punktierte Kurve) verschiebt noch weiter nach links, der Knick liegt bei demselben Werte, den wir für unseren früheren Versuch vermutet hatten, wenn wir den ersten Punkt als im Knick liegend betrachten. Der im Knick liegende Punkt unseres neuen Versuchs hat $p_H = 7{,}31$. Minimale weitere Erhöhung auf 0,0095 Mol (Tabellen Nr. 28, Abb. 3, Dreistern, gestrichelte Kurve) hat nun sofort eine fast maximale Wirkung des Prinzips a zur Folge. Der Knick liegt bei $p_H = 6{,}93$; 6,94; 6,94; 6,94. Und mit 0,01 Mol schließlich (Tabellen Nr. 29 u. 30, Abb. 3, stehende Kreuze, gestrichelte Kurve) finden sich für den Knick die Werte $p_H = 6{,}91$ und 6,93. Damit stimmt die Lage des Knicks überein mit der in dem dritten früheren Versuch (Tabellen Nr. XXXI,

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

Abb. 5, Kurve 3 der früheren Mitteilung) bei einer Konzentration von 0,02 Mol gefundenen. Der damals bestimmte Wert für den Knick lag bei $p_H = 6{,}88$. Was wir beim Aluminium zum ersten Male beobachtet hatten, findet sich beim Lanthan wieder, bei dem wir die Erscheinung noch viel sorgfältiger mit ganz langsamer Änderung der Konzentration verfolgt haben. Während sich bei einer Konzentration, in vorliegendem Falle 0,009 Mol, noch die maximale *b*-Wirkung gefunden hatte, hat eine minimale Steigerung auf 0,0095 Mol schon die Folge, daß die maximale *a*-Wirkung



●- - - - - -● Tabellen Nr. 26. $LaCl_3$ 0,008 Mol.
○·········○ Tabellen Nr. 27. $LaCl_3$ 0,009 Mol.
≻————≺ Tabellen Nr. 28. $LaCl_3$ 0,0095 Mol.
+- - - - -+ Tabellen Nr. 29. $LaCl_3$ 0,01 Mol.
×- - - - -× Alter Versuch. Tabellen Nr. XXX. $LaCl_3$ 0,01 Mol.

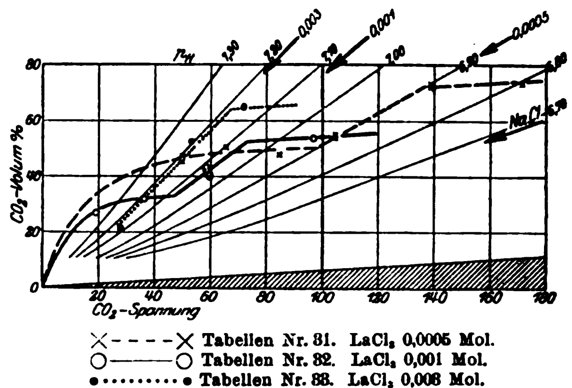
Abb. 3. Kohlensäurebindungskurve von Hämolyseblut mit Zusatz von Lanthanchlorid. Erklärung wie Abb. 1.

auftritt. Wenn wir in dem früher mitgeteilten Versuche, bei dem wir die Konzentration auf 0,01 Mol bewertet hatten, noch die maximale *b*-Wirkung gefunden hatten, so liegt dies zweifellos an den unvermeidlichen Fehlerbreiten beim Pipettieren der zugefügten Lanthanlösung. Da wir das Lanthanchlorid in molaren Lösungen zugefügt hatten, handelt es sich um Differenzen von 0,009—0,01 ccm der zupipettierten Lösung. Auch bei Verwendung von Capillarpipetten, die in 0,001 ccm geteilt sind, muß wegen der Tropfengröße mit dieser Fehlerbreite der Mengenbestimmung gerechnet werden. Jedenfalls ergeben diese Beobachtungen den fast momentanen Umschlag von maximaler *b*-Wirkung zu maximaler *a*-Wirkung bei minimaler Steigerung der zugefügten Lanthanmengen.

b) Waschversuche.

Aus den in der Einleitung angeführten Gründen, vor allem wegen der Bildung einer zähflüssigen gelatinösen Masse an Stelle der Blutkörperchensuspension, konnte die Wirkung des Lanthans auf die intakten roten Blutkörperchen nur in sehr kleinen Dosen untersucht werden. Mit Lanthanchlorid 0,0005 Mol (Tabellen Nr. 31, Abb. 4, liegende Kreuze, gestrichelte Kurve), also einer Menge, die um eine Dezimale niedriger ist als die in den vorigen Versuchen in ihrer Wirkung auf das Hämoglobin geprüfte, findet sich schon eine deutliche Wirkung des Prinzips b. Der Knick liegt bei $p_H = 6{,}91$; 6,91; 6,89; 6,90. Verdoppelung der Lanthankonzentration auf 0,001 Mol (Tabellen Nr. 32, Abb. 4, Ringe, ausgezogene Kurve) verschiebt weiter nach links, Knick bei $p_H = 7{,}09$; 7,07; 7,05; 7,06. Und mit 0,003 Mol

schließlich (Tabellen Nr. 33, Abb. 4, Punkte, punktierte Kurve) wird der Knick noch weiter nach links verschoben, er liegt bei $p_H = 7,14$; 7,13; 7,21. Ein Blick auf Abb. 4 zeigt, daß die Übereinstimmung der für diesen Knick bestimmten Werte besser ist, als es nach den Zahlen scheint. Der



X - - - - X Tabellen Nr. 31. $LaCl_3$ 0,0005 Mol.
O——O Tabellen Nr. 32. $LaCl_3$ 0,001 Mol.
• · · · · · • Tabellen Nr. 33. $LaCl_3$ 0,003 Mol.

Abb. 4. Kohlensäurebindungskurve von Blutkörperchensuspensionen in isotonischen Lösungen mit Zusatz von Lanthanchlorid. Erklärung wie Abb. 1.

Knick verläuft dort sehr steil und die Linien gleicher Wasserstoffzahl liegen sehr nahe benachbart. Ob mit diesem Versuche das Maximum der *b*-Wirkung erreicht ist, bleibt ungewiß. Die Wirkung des Prinzips a ist bei den allein der Prüfung zugänglichen Dosen noch nicht nachweisbar.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Untersuchung des Einflusses der drei Elemente Bor, Aluminium und Lanthan aus der dritten Reihe des periodischen Systems in ihrer Wirkung auf Hämoglobin und Zelle hat fast wider Erwarten ebenfalls eine Gesetzmäßigkeit ergeben. Die Versuche an den unversehrten Zellen konnten nicht lückenlos durchgeführt werden wegen entgegenstehender technischer Schwierigkeiten, vor allem wegen auftretender Hämolyse. Für die weiteren Überlegungen scheiden also diese Versuche aus.

Um so bemerkenswerter sind die an hämolysiertem Blute beobachteten Ergebnisse. Der aus den früheren Untersuchungen bekannte Antagonismus der Prinzipien a und b findet sich auch hier durchweg wieder. Wieder überwiegt in schwachen Konzentrationen das Prinzip b, in starken dagegen Prinzip a. Betrachten wir zunächst die erreichten maximalen Ausschläge. Bor verschiebt bei 0,02 molarer Konzentration auf $p_H = 7,31$ als Mittel von 5 Werten. Aluminium bei 0,002 molarer Konzentration auf $p_H = 7,30$. Und für Lathan findet sich bei 0,009 molarer Konzentration 7,30 als Mittel von 3 Werten. Man sieht, der erreichte

maximale Wert der *b*-Wirkung ist für alle 3 Substanzen absolut identisch.

Das Maximum der *a*-Wirkung wird bei Bor in der Konzentration von 0,1 Mol erreicht. Als Durchschnitt von 4 Werten findet sich der Knick bei $p_H = 6{,}895$. Mit Aluminium tritt das Maximum der *a*-Wirkung bei 0,003 molarer Konzentration auf. Als Mittel von 5 Werten findet sich der Knick bei $p_H = 6{,}90$. Lanthanchlorid schließlich ergibt bei 0,01 molarer Konzentration den Knick bei $p_H = 6{,}91$ als Mittel von 3 Werten. Man sieht, auch das Maximum der *a*-Wirkung ist für die 3 Substanzen dasselbe.

Diese Beobachtung steht nicht im Einklang mit der Annahme, daß die Schulzesche Wertigkeitsregel diese Vorgänge bestimme. Nach dieser Regel wäre die Wirksamkeit eines Ions abhängig von der Ladung, die es trägt. Die starke Wirkung des Lanthans auf Kolloide wurde nach dieser Regel als die Folge der dreifachen positiven Ladung des Lanthanions aufgefaßt. Wir hatten schon früher[1]) darauf hingewiesen, daß sich unsere Beobachtungen über die Wirkungen der Alkaliionen mit dieser Regel nicht vertragen. Die Beobachtungen der vorliegenden Mitteilung scheinen uns mit dieser Regel ganz unvereinbar. Schon beim Aluminium ergeben sich die größten Schwierigkeiten. Wir hatten darauf hingewiesen, daß Aluminiumchlorid als das Salz einer schwachen Base nur zu einem kleinen Teil elektrolytisch dissoziiert ist, daß also nur verhältnismäßig wenige Aluminiumionen in Lösung zugegen sind. Ein erheblicher Teil des Salzes ist hydrolysiert zu denken, d. h. es ist zwar das Chlorion abgespalten, der Rest aber als Aluminiumhydroxyd in elektrisch neutraler Form zugegen. Obgleich also nur verhältnismäßig wenige dreifach positiv geladene Aluminiumionen in der Lösung enthalten sind, wirkt Aluminium in viel geringerer Konzentration als das stark dissoziierte Lanthan. Das Maximum der *b*-Wirkung wird mit 0,002 Mol Aluminiumchlorid, aber erst mit 0,009 Mol Lanthanchlorid erreicht, das Maximum der *a*-Wirkung mit 0,003 Mol Aluminiumchlorid, aber erst mit 0,01 Mol Lanthanchlorid. Berücksichtigt man die vorwiegend hydrolytische Spaltung des Aluminiumchlorids, so müßte man den relativ wenig zahlreichen Aluminiumionen, die tatsächlich auftreten, eine ganz ungeheuer viel stärkere

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 98, 228. 1919.

Wirkung zusprechen als den zahlreichen Lanthanionen. Es wird damit sehr fraglich, ob die von uns beobachtete Wirkung überhaupt an die dreifach positiv geladenen Ionen gebunden ist, oder ob es sich um eine Eigenschaft des Atoms handelt, die auch in undissoziierter, elektrisch neutraler Form zur Geltung kommen kann.

Diese Überlegung wird nahezu zur Gewißheit, wenn man die mit Borsäurezusatz gemachten Erfahrungen berücksichtigt. Zwar ist es, wie wir schon früher ausgeführt haben[1]), schwierig zu beurteilen und keineswegs endgültig entschieden, in welcher Form die Borsäure in einer nahezu neutralen Lösung zugegen ist. Sicher ist, daß das Borhydroxyd, die Borsäure, bei dem hier in Betracht kommenden Säuregrad der Lösung praktisch noch keine Wasserstoffionen abspaltet, daß also die Borsäure noch nicht als Anion auftritt, daß sie noch keine Säureeigenschaften entfaltet. Aber andererseits tritt doch offenbar die basische Eigenschaft des Borhydroxydes bei der hier vorkommenden Wasserstoffzahl ebenfalls ganz zurück. Es geht wohl kaum an, anzunehmen, daß alle drei Hydroxylionen der Borsäure abgespalten wären und das Bor analog dem Aluminium und Lanthan als dreifach positiv geladenes Borion auftreten könnte. Und trotzdem entfaltet die zugesetzte Borsäure im Prinzip genau dieselbe Wirkung wie das Aluminiumchlorid und Lanthanchlorid. Wir sehen demnach keine Möglichkeit, diese Wirkung, die uns hier interessiert und die offenbar biologisch die größte Bedeutung besitzt, an die Ionen gebunden zu denken. Offenbar muß sie vielmehr den Atomen zuerkannt werden. Die Annahme, daß andere Wirkungen an die Ionen gebunden sind und daß die elektrische Ladung der Ionen von Einfluß auf solche andersartige Vorgänge ist, wird davon nicht berührt.

Daß die Ionisation deshalb ganz ohne Einfluß auf den Wirkungsgrad sei, soll damit keineswegs behauptet werden. Sind doch von Bor viel größere Dosen nötig, um die maximalen Wirkungen zu erreichen, als von den teilweise oder ganz ionisierten Elementen Aluminium und Lanthan. Die *b*-Wirkung wurde mit der älteren Borlösung erst bei 0,02 molarer Konzentration maximal, die *a*-Wirkung erst mit 0,1 molarer. Wir glauben diese Tatsache dahin verstehen zu sollen, daß der wirksame Faktor

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 90, 305. 1918.

von den Ionen leichter an den Wirkungsort herangebracht wird als von den nicht ionisierten Atomen. Wenn wir dieses Heranbringen der Wirkung an den Wirkungsort in der Form einer Adsorption an der Oberfläche der Kolloide annehmen, so wird diese Meinung verständlich. Es wird auch verständlich, daß zur Erreichung der *b*-Wirkung, die mit verhältnismäßig geringen Mengen erzielt wird, von der alten Borsäurelösung nur die doppelte Konzentration, von der frisch bereiteten Lösung sogar eine etwas geringere Konzentration gegenüber dem Lanthan erforderlich ist. Zur Erreichung der maximalen *a*-Wirkung dagegen, die erst von ziemlich hohen Konzentrationen erzielt wird, ist von der alten Borsäurelösung die zehnfache Menge, von der frisch bereiteten vermutlich etwa die dreifache Menge gegenüber dem Lanthan erforderlich. Offenbar ist es schwer, von dem großen Borsäuremolekül die erforderliche Menge an der Kolloidoberfläche zur Adsorption zu bringen, und diese Schwierigkeit wächst um so mehr, je größer die zur Wirkung erforderliche Konzentration ist. Die erforderliche größere Menge des Lanthanions dagegen an der Oberfläche zu adsorbieren, ist auch bei höheren Konzentrationen verhältnismäßig leichter möglich.

Mit den Ergebnissen, die bei Prüfung der Erdalkalien erhalten wurden[1]), ergeben sich manche prinzipielle Ähnlichkeiten. Auch die Erdalkalien hatten in kleinen Dosen eine Wirkung im Sinne des Prinzips b entfaltet, in großen Dosen war das Prinzip a hervorgetreten. Die Größenordnung der wirksamen Konzentrationen ist bei Erdalkalien und Erden ungefähr dieselbe. Doch war das Prinzip b bei den Erdalkalien sehr schwach ausgesprochen, die Verschiebung des Knicks aus der Normallage nach der basischen Seite war nur eine sehr geringe. Bei den Erden dagegen ist das Prinzip b sehr stark vorhanden, die Verschiebung des Knicks ist eine sehr beträchtliche. Von $p_H = 7{,}00$ wird er auf $p_H = 7{,}31$ bzw. 7,30 verschoben. Damit erreicht der Knick eine so hochgradige Verschiebung, wie wir sie bisher nur einmal, nämlich beim Caesium, gefunden hatten. Der für den Caesiumknick gefundene Wert von 7,34 stimmt mit dem bei den Erden ermittelten sehr nahezu überein. Das Prinzip a dagegen ist bei den Erden viel schwächer wirksam als bei den Erdalkalien. Die Erden verschieben den Hämoglobinknick in hohen Konzentrationen auf $p_H = 6{,}90$,

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 109, 47. 1920.

während die Erdalkalien den Wert 6,80 ergeben hatten. Diese Wasserstoffzahlen sind, woran hier nochmals erinnert sei, Logarithmen. Schon früher bei der Untersuchung der Alkalien hatten wir in den Verschiebungen dieser logarithmischen Werte eigenartige Gesetzmäßigkeiten gefunden. Bei den Alkalien war die Differenz der Wasserstoffzahlen in der Reihe Natrium, Kalium, Rubidium und Caesium stets von Element zu Element dieselbe gewesen. Der für das Caesium gefundene Endwert wird bei den Erden so nahezu wieder erreicht, daß man wohl annehmen darf, es handle sich um einen und denselben Wert. Vielleicht kann eine noch bessere Übereinstimmung deshalb gar nicht erwartet werden, weil der Endwert der *b*-Wirkung ja bei den Erden auf einem Gleichgewichtszustand zwischen Prinzip a und b beruht und weil dementsprechend der endgültige Wert der *b*-Wirkung nur bei optimaler Konzentration erhalten werden kann. Es hatte sich gezeigt, daß schon ein minimales Überschreiten der optimalen Konzentration sofort die maximale *a*-Wirkung hervortreten läßt. Die Bestimmung des Endwertes der *b*-Wirkung ist dadurch bei den Erden mit einer kleinen Unsicherheit behaftet. Beim Caesium dagegen war nur das Prinzip b wirksam. Aus diesen Überlegungen heraus wird man mit der Möglichkeit rechnen müssen, daß die nahe Nachbarschaft des Caesium- und des für die Erden gefundenen Wertes nicht auf einem bloßen Zufall beruht.

Für die *a*-Wirkung ergibt sich dann die ebenfalls auffallende Tatsache, daß der Abstand von der Normallage für die Erdalkalien genau doppelt so groß ist als für die Erden. Nun darf man freilich nicht aus dem Auge verlieren, daß die Methode der Bestimmung der Wasserstoffzahlen, die wir verwendet haben, doch immerhin eine nicht unerhebliche Fehlerbreite besitzt. Aber die ermittelten Werte der Endwirkung für jede Reihe von Elementen stellen doch Durchschnittswerte aus einer ziemlich großen Anzahl von Bestimmungen dar und die Streuung der Fehlerbreite ist für jede Bestimmungsserie nicht so groß, daß man die ermittelten Durchschnittswerte nicht als recht gut charakterisiert ansprechen könnte. Vielleicht wäre das, was man doch wohl aus unseren Beobachtungen folgern muß, besser begründet, wenn ein noch genaueres Verfahren zur Bestimmung der Wasserstoffzahl zur Verfügung stünde. Aber kein einziges bisher bekanntes hat eine wesentlich kleinere Fehlerbreite. So wird man es nur mit

einer gewissen Reserve aufnehmen, wenn aus unseren Beobachtungen die Vermutung abgeleitet wird, es könnte die Wirkung, die wir als Verschiebung des Hämoglobin- und Zellknicks beobachteten, durch Kräfte hervorgerufen werden, die nicht zu kontinuierlichem Verschieben im Prinzip befähigt sind, sondern die immer dann, wenn sie maximale Wirkung entfalten, diese Wirkung in Stufen erreichen, mit anderen Worten, daß es sich um gequantelte Kräfte handelt. Welcher Art die in Betracht kommenden Elementarquanten der wirksamen Kräfte sind, soll späteren Erörterungen vorbehalten bleiben.

Zusammenfassung.

Bei Prüfung des Einflusses der drei Elemente der dritten Reihe des periodischen Systems Bor, Aluminium und Lanthan auf die Ladung des Hämoglobins ergab sich für alle drei eine prinzipiell gleichartige Wirkung. Bei allen war in schwachen Konzentrationen das die Entladung des Hämoglobins unterstützende Prinzip b in sehr wirksamer Form nachweisbar. Bei allen tritt bei optimaler Konzentration die durch den Knick der Kohlensäurebindungskurve angezeigte Entladung des Hämoglobins schon bei der Wasserstoffzahl p_H = etwa 7,31 ein, also ziemlich genau bei demselben Werte wie nach Caesiumzusatz.

Mit Steigerung der Konzentration tritt bei allen drei Elementen das antagonistische Prinzip a auf, das bei genügend hoher Konzentration den Knick der Kohlensäurebindungskurve auf p_H = 6,90 verschiebt, also halb so stark, als bei Zusatz ausreichender Mengen von Erdalkalien.

Das zugesetzte Lanthanchlorid ist stark dissoziiert, Lanthan vorwiegend als Ion zugegen; Aluminiumchlorid ist stark hydrolytisch gespalten, nur ein kleiner Teil des Aluminiums ionisiert. Bor wurde als nicht dissoziierte Borsäure zugesetzt. Die beobachtete Wirkung auf die Ladung des Hämoglobins ist also nicht an die Gegenwart der Ionen gebunden. Die Beobachtung steht nicht in Einklang mit der Schulzeschen Wertigkeitsregel, da Aluminium in größerer Verdünnung als Lanthan wirksam ist und da auch die nicht ionisierte Borsäure dieselbe Wirkung besitzt. Offenbar handelt es sich demnach um Wirkungen der Atome, nicht der Ionen.

Die Wirkung der drei Elemente auf ganze Zellen konnte

wegen auftretender Hämolyse nicht vollständig durchgeprüft werden. Bei Lanthan ließ sich die Wirkung des Prinzips b an ganzen Zellen ebenso wie am Hämoglobin nachweisen. Aluminium konnte nicht untersucht werden. Bei der Borsäure scheint das Prinzip b auf die Zelle nur schwach wirken zu können, das Prinzip a dagegen ist gut nachweisbar.

Versuchsprotokolle.

I. Borsäure.

A. Hämolyseversuche[1]).

Alte Lösung.

1. Abb. 1. Stehende Kreuze, ausgezogene Kurve.

Blut defibiriniert + H_3BO_3 0,005 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	17,6	34,4	50,6	64,1	72,6	92,4
CO_2-Kapazität	32,6	36,1	38,3	45,8	52,3	52,6
					49,2	50,1
p_H	7,52	7,26	7,11	7,07	7,06	6,95
				Knick	7,04	6,93

2. Abb. 1. Ringe, punktierte Kurve.

Blut defibriniert + H_3BO_3 0,015 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	17,6	34,4	41,1	49,0	74,8
CO_2-Kapazität	22,7	33,8	38,2	41,1	40,4
	23,6			39,1	
p_H	7,38	7,23	7,20	7,15	6,94
	7,39	Knick.		7,13	

3. Blut defibriniert + H_3BO_3 0,02 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	16,6	21,7	28,9	36,1	63,1
CO_2-Kapazität	18,9	24,2	32,0	35,7	38,0
		23,1			36,3
p_H	7,33	7,31	7,29	7,23	7,00
		7,29			6,98
	Knick. (7,33–7,29)				

4. Abb. 1. Kreuzringe, gestrichelte Kurve.

Blut defibriniert + H_3BO_3 0,02 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	16,4	25,0	29,2	37,3	49,0	70,1
CO_2-Kapazität	25,3	31,8	36,3	35,6	36,3	36,7
	24,4					
p_H	7,46	7,36	7,34	7,22	7,10	6,93
	7,44	Knick. (7,36–7,34)				

[1]) Vgl. auch: Diese Zeitschr. 90, 305. 1918 Nr. XXIII, Abb. 1 dieser Mitteilung, liegende Kreuze, strichpunktierte Kurve.

5. Abb. 1. **Punkte, ausgezogene Kurve.**

Blut defibriniert + H_3BO_3 0,1 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	27,0	36,1	56,7	75,1
CO_2-Kapazität	19,5	19,9	**26,5**	**36,6**
p_H	7,12	6,99	**6,89**	**6,90**
			Knick.	

6. Abb. 1. **Dreisterne, ausgezogene Kurve.**

Blut defibriniert + H_3BO_3 0,133 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	16,9	31,6	40,4	48,0	57,1	92,0
CO_2-Kapazität	16,0	18,3	21,5	**21,5**	**27,6**	31,3
p_H	7,21	7,02	6,96	**6,88**	**6,91**	6,72
				Knick.		

Neue Lösung.

7. **Blut defibriniert + H_3BO_3 0,008 Mol + Saponin.**

CO_2-Spannung	10,8	20,5	28,5	37,8	87,3	106,2
CO_2-Kapazität	17,8	30,3	**31,9**	**43,8**	59,3	60,9
	15,6	27,4				62,3
p_H	7,50	7,43	**7,30**	**7,29**	7,03	6,95
	7,45	7,38	Knick.			6,96

8. **Blut defibriniert + H_3BO_3 0,008 Mol + Saponin.**

CO_2-Spannung	15,7	29,2	38,3	55,2	79,7
CO_2-Kapazität	22,7	**34,6**	**39,4**	47,9	50,3
	20,3	**32,1**			
p_H	7,43	**7,32**	**7,25**	7,16	7,00
	7,39	**7,29**			
		Knick.			

9. **Blut defibriniert + H_3BO_3 0,01 Mol + Saponin.**

CO_2-Spannung	7,4	24,0	32,1	40,3	48,4	55,6	110,4
CO_2-Kapazität	16,4	26,8	**28,7**	**36,7**	**41,9**	**48,1**	58,2
							56,1
p_H	7,64	7,30	**7,20**	**7,19**	**7,16**	**7,15**	6,90
				Knick.			6,89

10. **Blut defibriniert + H_3BO_3 0,01 Mol + Saponin.**

CO_2-Spannung	16,3	28,1	42,7	65,8	109,0
CO_2-Kapazität	29,2	31,8	**38,5**	51,9	50,1
			41,0		53,1
p_H	7,51	7,30	**7,19**	7,10	6,85
			7,21		6,87
			Knick.		

11. Blut defibriniert + H_3BO_3 0,02 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	20,2	30,0	51,9	64,7	72,5	100,8
CO_2-Kapazität	22,2	22,6	31,2 29,3	40,6 37,9	39,8	44,5
p_H	7,31	7,13	7,01 6,98	7,01 6,98	6,95	6,83
			Knick.	Knick.		

B. Waschversuche.

Alte Lösung.

12. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,002, NaCl 0,154 Molar.

CO_2-Spannung	28,7	55,9	96,6	138,0	199,3
CO_2-Kapazität	23,9	31,1	33,5	45,5	59,1
p_H	7,18	6,97	6,72	6,68 Knick.	6,61

13. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,01, NaCl 0,15 Molar.

CO_2-Spannung	70,1	92,4	138,1	206,6
CO_2-Kapazität	37,5	36,7	48,0	60,1
p_H	6,94	6,79	6,71 Knick.	6,60

14. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,015, NaCl 0,145 Molar.

CO_2-Spannung	22,9	56,8	68,0	164,0	216,7
CO_2-Kapazität	16,8 16,4	29,2	29,1	49,8 50,8	52,7
p_H	7,13 7,12	6,93	6,84	6,64 ↑ 6,64 Knick.	6,51

15. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,02, NaCl 0,145 Molar.

CO_2-Spannung	25,2	58,2	88,1	104,6	134,7	194,3	269,6
CO_2-Kapazität	24,1	37,0	43,6 44,1	46,5	49,0	58,3	69,0
p_H	7,24	7,02	6,89 6,90	6,83	6,73	6,62 Knick.	6,52

16. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,03, NaCl 0,14 Molar.

CO_2-Spannung	49,2	91,8	131,6	152,2	182,7
CO_2-Kapazität	21,0	26,2	40,4	48,7	46,4
p_H	6,86	6,64	6,64	6,65	6,54
		Knick.	Knick.	Knick.	

Neue Lösung.

17. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,00005, NaCl 0,155 Molar.

CO_2-Spannung	52,0	89,9	102,4	119,7	162,3
CO_2-Kapazität	31,4	**31,8** **32,0**	**40,0** **37,3**	**44,5**	48,8
p_H	7,01	**6,74** **6,74**	**6,78** **6,75**	**6,75**	6,63
			Knick.		

18. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,0002, NaCl 0,155 Molar.

CO_2-Spannung	44,4	97,4	108,0	121,9	164,6
CO_2-Kapazität	24,2 22,7	**36,6**	**38,8**	41,4	44,8
p_H	6,97 6,94	**6,76**	**6,74**	6,70	6,58
		Knick.			

19. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,0005, NaCl 0,155 Molar.

CO_2-Spannung	51,9	107,4	128,3	138,9	179,5
CO_2-Kapazität	26,7 26,4	**39,2** **36,0**	**44,9** **42,9**	**48,8**	48,2 49,2
p_H	6,94 6,93	**6,74** **6,70**	**6,71** **6,69**	**6,71**	6,57 6,58
			Knick.		

20. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,001, NaCl 0,155 Molar.

CO_2-Spannung	23,2	55,9	84,5	107,6	134,6	184,8
CO_2-Kapazität	16,3 14,8	28,6	30,6 29,3	**33,7** **33,5**	**39,8**	46,4
p_H	7,12 7,07	6,93	6,75 6,73	**6,67** **6,67**	**6,63**	6,53
				Knick.		

21. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,004, NaCl 0,15 Molar.

CO_2-Spannung	17,0	56,7	88,0	145,9	211,5	248,5
CO_2-Kapazität	16,6 14,2	37,8	40,7	41,4	**55,6** **54,2**	**67,3**
p_H	7,27 7,20	7,03	6,86	6,61	**6,55** **6,54**	**6,55**
					Knick.	

22. Blutkörperchensuspension in H_3BO_3 0,005 / NaCl 0,15 Molar.

CO_2-Spannung	29,2	52,9	68,4	82,2	128,2
CO_2-Kapazität	11,8	15,9	18,1	**20,3**	**32,7**
	10,0	15,4			
p_H	6,85	6,69	6,61	**6,57**	**6,56**
	6,77	6,67		Knick.	

II. Aluminium.

Hämolyseversuche[1]).

23. Abb. 2. Ringe, ausgezogene Kurve.

Blut defibriniert + $AlCl_3$ 0,001 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	22,6	39,4	49,1	57,8	65,1	93,0
CO_2-Kapazität	27,3	35,0	37,3	**40,5**	**45,8**	49,3
	27,7		35,0	**40,2**		
p_H	7,34	7,18	7,11	**7,06**	**7,06**	6,92
	7,35		7,08	**7,06**		
				Knick.		

24. Abb. 2. Punkte, punktierte Kurve.

Blut defibriniert + $AlCl_3$ 0,002 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	18,4	42,7	65,9	83,6
CO_2-Kapazität	32,3	**51,6**	55,6	59,2
	29,9			
p_H	7,50	**7,30**	7,14	7,05
	7,47	Knick.		

25. Abb. 2. Kreuze, gestrichelte Kurve.

Blut defibriniert + $AlCl_3$ 0,003 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	18,3	33,6	43,0	54,8	67,2	79,8	115,1
CO_2-Kapazität	27,3	28,5	30,0	30,1	**32,4**	**40,0**	47,8
p_H . . .	7,44	7,17	7,08	6,96	**6,90**	**6,905**	6,80
					Knick.		

III. Lanthan.

A. Hämolyseversuche[2]).

26. Abb. 3. Punkte, strichpunktierte Kurve.

Blut defibriniert + $LaCl_3$ 0,008 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	26,8	61,8	94,0	137,5
CO_2-Kapazität	38,4	**53,0**	69,0	70,6
		50,2		
p_H	7,40	**7,14**	7,06	6,89
		7,12		
		Knick.		

[1]) Vgl. auch H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. **90**, 305. 1918. Tabellen Nr. XXXII und XXXIII.

[2]) Vgl. ebenda Tabellen Nr. XXIX, XXX und XXXI.

27. Abb. 3. Ringe, punktierte Kurve.

Blut defibriniert + $LaCl_3$ 0,009 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	25,7	42,0	72,6	94,3	118,9
CO_2-Kapazität	42,0	**51,4**	68,2	67,1	73,4
p_H	7,45	**7,31**	7,18	7,04	6,97
		Knick.			

28. Abb. 3. Dreistern, gestrichelte Kurve.

Blut defibriniert + $LaCl_3$ 0,0095 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	10,4	37,5	47,6	58,2	99,2	111,6
CO_2-Kapazität	33,4	45,5	44,1	47,9 48,9	**54,0** **56,2**	**63,5** **62,8**
p_H	7,76	7,31 7,29	7,19 7,13	7,13 7,15	**6,93** **6,94**	**6,94** **6,94**
					Knick.	

29. Abb. 3. Stehende Kreuze, gestrichelte Kurve.

Blut defibriniert + $LaCl_3$ 0,01 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	19,3	32,8	48,8	97,0	119,3	150,1
CO_2-Kapazität	33,4 32,3	42,6	45,6	**51,1**	**66,4**	70,3
p_H	7,49 7,48	7,35	7,19	**6,91**	**6,93**	6,84
				Knick.		

30. Blut defibriniert + $LaCl_3$ 0,01 Mol + Saponin.

CO_2-Spannung	26,4	64,7	78,4	89,1	165,3
CO_2-Kapazität	42,0	46,1	47,4	49,9 47,8	71,4
p_H	7,44	7,07	6,99	6,94 6,92	↑ 6,80
					Knick.

B. Waschversuche.

31. Abb. 4. Liegende Kreuze, gestrichelte Kurve.

Blutkörperchensuspension in $LaCl_3$ 0,0005, NaCl 0,154 } Molar.

CO_2-Spannung	49,8	65,2	84,5	104,2	138,5	171,4
CO_2-Kapazität	45,4 47,4	50,5	47,8	**55,1** **54,4**	**72,1** **73,5**	73,4
p_H	7,18 7,20	7,10	6,96	**6,91** **6,91**	**6,89** **6,90**	6,79
				Knick.		

32. Abb. 4. Ringe, ausgezogene Kurve.

Blutkörperchensuspension in $LaCl_3$ 0,001, NaCl 0,153 } Molar.

CO_2-Spannung	19,0	36,0	58,1	59,3	96,8
CO_2-Kapazität	26,9	31,8	43,2 42,0	39,9 40,9	53,4
p_H	7,41	7,19	7,09 7,07	7,05 7,06	6,93
			Knick.		

33. Abb. 4. Punkte, punktierte Kurve.

Blutkörperchensuspension in $LaCl_3$ 0,003, NaCl 0,149 } Mol.

CO_2-Spannung	27,6	53,0	71,7
CO_2-Kapazität	21,2 20,7	52,6	65,0 64,7
p_H	7,14 7,13	7,21	7,16 7,16
	Knick.		

Blutgasanalysen. VIII.

Der Einfluß einiger Digitaliskörper auf die Ionendurchgängigkeit menschlicher Erythrocyten.

Von

H. Straub und Klothilde Meier.

(Aus der I. medizinischen Klinik der Universität München und der medizinischen Poliklinik der Universität Halle a. S.)

(Eingegangen am 10. August 1920.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Die Versuche von W. Straub - Freiburg[1]) über den Chemismus der Strophanthinwirkung ergaben, daß bei der Strophanthinvergiftung des Froschherzens sehr kleine Giftmengen verbraucht werden, und daß die physiologische Reaktion proportional der Konzentration ist, in der das Strophanthin die Herzelemente umgibt.

W. Straub schließt aus dieser Beobachtung auf einen rein lokalen Charakter der Reaktion, lehnt ein Eindringen in das Innere der Ventrikelzellen ab und sucht wie bei der Adstringierung nur an der Grenzschicht eine fast irreversible Reaktion. W. Straub erinnert in diesem Zusammenhang an die nahe chemische Verwandtschaft der Digitalisglykoside mit ausgesprochenen Grenzschichtgiften, wie den Saponinen. Während aber nach der Berechnung v. Weizsäckers[2]) nach Eintritt der Wirkung die Konzentration des Strophanthins in Ringerlösung und Zelle die gleiche ist, läßt sich bei Digitalin (Merck) eine sehr erhebliche Speicherung des Giftes im Herzen nachweisen. In der Volumeinheit der Zelle ist schließlich 25mal mehr Digitalin enthalten als im Milieu. Die Gesamtmenge des bei Eintritt der Herzwirkung gebundenen Giftes ist dieselbe, unabhängig von der Konzentration des Giftes in der Spülflüssigkeit. Der beherrschende Einfluß der Konzentration auf die Wirkungsgeschwindigkeit besteht in einer Zunahme der Bindungsgeschwindigkeit. In einer späteren Mitteilung

[1]) W. Straub, diese Zeitschr. 28, 392. 1910.

[2]) V. v. Weizsäcker, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, 347, 1913.

hat v. Weizsäcker[1]) gezeigt, daß im Gegensatz zum Strophanthin Gitalin (Kraft), Digitalin (Kiliani), Erythrophlein und Saponin (Merck) im Herzen in erheblichem Maße gespeichert werden. Bemerkenswert ist der Parallelismus zwischen Speicherungsfähigkeit und Oberflächenaktivität der untersuchten Substanzen. Der Gedanke, daß die Wirkung der Digitaliskörper in Beziehungen zu ihrer Oberflächenaktivität steht, ist neuerdings besonders nachdrücklich von Pietrkowski[2]), [3]), [4]) aufgenommen worden. Die fällende Wirkung des Strophanthins auf ein Suspensionskolloid zeigte Pietrkowski durch die Zunahme der Zahl der ultramikroskopisch sichtbaren Teilchen einer Goldlösung, die mit Strophanthin vergiftet wurde. Dabei übt das Strophanthin nach einiger Zeit auf die Goldlösung eine gewisse Schutzwirkung gegen den fällenden Einfluß von KCl aus. Auch nimmt eine mit Strophanthin vergiftete Gelatine, also ein hydrophiles Kolloid, weniger Wasser auf als unvergiftete. Dementsprechend sieht Pietrkowski ganz direkt das Wesentliche der Digitaliswirkung in einer Adsorption an der Faseroberfläche mit Fällung und Verfestigung.

Der Versuch, auf dem hier vorgezeichneten Wege tieferen Einblick in den Wirkungsmechanismus der Digitaliskörper zu bekommen, lenkt den Blick auf die nahe Verwandtschaft dieser Wirkung mit derjenigen bestimmter Elektrolyte, deren Einfluß neuerdings gleichfalls mit ihrer Oberflächenwirkung erklärt wird. Nachdem schon in älteren Versuchen von E. Gross[5]), R. Böhm[6]), F. B. Hofmann[7]) u. a. der Einfluß einiger anorganischer Salze auf die Tätigkeit des Herzens festgestellt worden war, ist die Beziehung zwischen Digitalis- und physiologischer Kationenwirkung namentlich von Löwi und seiner Schule[8]), [9]), [10]), aber auch vielfach von anderer Seite eingehend untersucht worden. Löwi hat die weitgehenden Analogien aufgezeigt, die zwischen der Strophanthin- und der Calciumwirkung bestehen. Löwi geht deshalb so weit, das Wesen der Strophanthinwirkung auf das Herz ganz direkt in einer Sensibilisierung für Calcium zu sehen. Ganz dementsprechend sieht auch Pietrkowski auf Grund seiner Quellungsversuche an Gelatine und Agar das Wesen der Calciumwirkung vollkommen analog dem der Digitaliswirkung in einer Entquellung der Grenzschichten.

---

[1]) V. v. Weizsäcker, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **81**, 247. 1917.

[2]) G. Pietrkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. **172**, 497. 1918.

[3]) G. Pietrkowski, diese Zeitschr. **98**, 92. 1919.

[4]) G. Pietrkowski, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **85**, **300**. 1920.

[5]) E. Gross, Arch. f. d. ges. Physiol. **99**, 264. 1903.

[6]) R. Böhm, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **75**, 230. 1914.

[7]) F. B. Hofmann, Zeitschr. f. Biol. **66**, 293. 1915.

[8]) A. v. Konschegg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **71**, 251. 1913.

[9]) O. Löwi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **82**, 131. 1917.

[10]) O. Löwi, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **83**, 366. 1918.

Bei unseren Untersuchungen über die Ionendurchgängigkeit menschlicher roter Blutkörperchen[1]), [2]), [3]) hatten wir Beobachtungen gemacht, die in vielen Punkten mit den Beobachtungen am Herzen in Beziehung stehen. Unsere Befunde hatten wir nur in dem Sinne deuten können, daß die roten Blutkörperchen in schwach basischer Lösung für Elektrolyte undurchgängig sind. Durch den Einfluß des Wasserstoffions wird diese Eigenschaft der Blutkörperchen verändert, so daß bei Erreichung einer ganz bestimmten, scharf definierten Wasserstoffionenkonzentration die Blutkörperchen plötzlich ionendurchgängig werden. Die nunmehr in das Zellinnere eindringenden Säureanionen können mit dem im Zellinnern eingeschlossenen Hämoglobin in Reaktion treten, was wir daran erkannten, daß nunmehr plötzlich pro Mol Hämoglobin ein Mol Kohlensäure mehr gebunden werden kann. In dem hier erörterten Zusammenhang ist es nun von besonderer Wichtigkeit, daß auch andere Kationen als das Wasserstoffion von Einfluß auf diese Reaktion der Zellgrenzschicht sind. Fügt man der Suspensionsflüssigkeit Kaliumionen zu, so werden die Zellen schon bei niedrigerer Wasserstoffionenkonzentration durchgängig. Die Wirkung des Calciumions besteht in höheren Konzentrationen in einer Erschwerung der Durchgängigkeit der Erythrocyten, während ganz niedrige Calciumkonzentrationen eine ganz schwache Wirkung im entgegengesetzten Sinne entfalten, also das Kaliumion unterstützen können. Die bei unsern Versuchen beobachtete Änderung der Zelldurchgängigkeit entspricht dem, was man gemeinhin als eine Änderung der Zellgrenzschicht oder Zellmembran bezeichnet. Entsprechend der herrschenden Anschauung hatten wir es für überwiegend wahrscheinlich gehalten, daß die beobachtete Ionenwirkung durch Adsorption des wirksamen Ions an der Zelloberfläche herbeigeführt wird. Wenn man diese Oberfläche entsprechend dem allgemeinen Sprachgebrauch gerne als Membran bezeichnet, so ist dieser Ausdruck etwas irreführend. Denn es ist zur Erklärung der beobachteten Vorgänge keinesfalls erforderlich, diese Grenzschicht als eine körperliche Membran vorzustellen, d. h. als ein dünnes, beiderseits scharf abgegrenztes, flächenhaftes Gebilde, das sich in seiner Beschaffenheit, vielleicht gar durch

[1]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 98, 205. 1919.
[2]) H. Straub und Kl. Meier, diese Zeitschr. 98, 228. 1919.
[3]) H. Straub und Kl. Meier diese Zeitschr. 109, 47. 1920.

die Art des Lösungsmittels, von Außenflüssigkeit und Zellinhalt unterscheidet. Mit andern Worten, es ist nicht notwendig, zwischen die wässerige Phase, in der die Zellen suspendiert sind, und die wässerige Phase des Zellinnern eine dritte, nicht wässerige oder wässerige Phase eingeschaltet zu denken. Ebensogut stimmen die gemachten Beobachtungen auch mit der Vorstellung überein, daß nur eine Phasengrenze zwischen Suspensionsflüssigkeit und Zelle besteht und daß sich die angenommenen Ionenadsorptionen an dieser Phasengrenze abspielen. Die Durchgängigkeitsänderung würde sich dann nicht als eine Veränderung der hypothetischen Membran darstellen, sondern als eine Zustandsänderung des ganzen Zellprotoplasmas oder der Protoplasmagrenzschicht. Ob das sogenannte Eindringen von Ionen in das Zellinnere dann nur auf einer Ionenadsorption an der Zelloberfläche oder auf einem Durchtreten der Ionen in das Zellprotoplasma beruht, bleibt dabei unentschieden.

Jedenfalls beruht das Wesen der beobachteten Reaktion auf Vorgängen an den Grenzflächen. Die von uns benützte Methode gestattet es nun, abweichend von den bisher gebrauchten Verfahren, die fragliche Änderung der Grenzschicht für einen bestimmten, biologisch besonders bedeutungsvollen Punkt, nämlich für den Augenblick, in dem die Durchgängigkeit eintritt, mit bisher nicht erreichter Genauigkeit zu messen. Wir bestimmen die Wasserstoffzahl, bei der plötzlich eine grundlegende Änderung der Zellkolloide auftritt. Da nun, besonders nach den Feststellungen v. Weizsäckers, die Digitaliskörper deutliche Oberflächenaktivität besitzen, mußte es aussichtsreich erscheinen, die Art dieser Oberflächenwirkung mit unserem Verfahren zu prüfen. Die bisher teils durch Modellversuche, teils durch indirekte Beobachtungen am Froschherzen erschlossene Änderung der Zellpermeabilität unter dem Einfluß des Digitaliskörper mußte sich auf diesem Wege direkt und objektiv nachweisen und außerdem quantitativ verfolgen lassen. Nun ist es freilich wahrscheinlich, daß die Digitaliskörper eine ganz besondere spezifische Affinität zu den Erfolgsorganen im Herzen besitzen. Damit ist aber keineswegs gesagt, daß sich nicht prinzipiell dieselben Erscheinungen, wenn auch vielleicht in höheren Konzentrationen, auch an anderen Zellarten abspielen sollten. Ja, es ist durchaus damit zu rechnen, daß Digitaliskörper auch an nicht zellförmigen

Kolloiden angereichert und von der Oberfläche dieser Kolloide nur schwer wieder abgegeben werden. Jedenfalls fand Oppenheimer[1]), wenn er zwei Froschherzen unter sonst gleichen Versuchsbedingungen mit gleichen Strophanthinmengen vergiftete, die im einen Fall in Ringerlösung, im andern in Serum gegeben wurden, eine gänzlich aufgehobene oder stark verzögerte Giftwirkung im Serum, die auf eine Zurückhaltung des Giftes im Serum, wahrscheinlich durch reversible Adsorption an Serumbestandteile, hinweist. Auch die erwähnten Versuche Pietrkowskis über die Wirkung auf Goldlösungen sind ebenso zu deuten.

Ist demnach eine Adsorption der Digitaliskörper schon an Serumbestandteile ohne Zellstruktur und an eine suspensoide Goldlösung anzunehmen, so konnte eine Adsorption an die Oberfläche roter Blutkörperchen, die den Wirkungsorten im Herzen in ihrer Beschaffenheit viel näher stehen, um so eher erwartet werden.

Wenn sich durch unsere Versuche der Nachweis erbringen läßt, daß die Digitaliskörper Oberflächenwirkung entfalten, und wenn sich über die Art der Wirkung an der Grenzschicht genauere Vorstellungen ergeben, so ist damit natürlich keine Stellung genommen zu der Frage, an welchem Orte innerhalb des Herzens die Digitaliskörper ihre Wirkung entfalten. Die in den vorangehenden Ausführungen erwähnten Autoren, die die Digitaliswirkung als eine Wirkung an Grenzflächen aufgefaßt haben, hielten es für selbstverständlich, daß es sich dabei nur um die Grenzflächen der Herzmuskelzellen handeln könne. Angesichts der quantitativen Feststellungen v. Weizsäckers über die absoluten gebundenen Giftmengen derjenigen Digitaliskörper, die starke Speicherung aufweisen, ist es in der Tat sehr schwer, anzunehmen, daß die Speicherung an einer andern Stelle als am Herzmuskel stattfinde. Nimmt man nämlich an, daß in den Versuchen v. Weizsäckers die nach eingetretener Vergiftung im Herzen enthaltene Digitalinmenge sich auf die ganze Herzmuskulatur gleichmäßig verteile, so ist die Konzentration des Giftes im Herzmuskel schon 25 mal so hoch wie in der Spülflüssigkeit. Wollte man annehmen, daß diese Menge nicht im Muskel, sondern in irgendeinem andern im Herzen jedenfalls nur in sehr geringer

[1]) E. Oppenheimer, diese Zeitschr. **55**, 134. 1913.

Menge enthaltenen Substrat fixiert wäre, so käme man zu der Annahme einer Giftkonzentration von so ungeheuerlichen Ausmaßen, daß der Vorstellung dadurch ernstliche Schwierigkeiten entstehen. Und diese aus v. Weizsäckers Versuchen zu folgernde Speicherung des Digitalins in der Herzmuskelzelle als etwas Unspezifisches anzusehen, das mit der mechanischen Herzwirkung nicht im Zusammenhang steht, macht erhebliche Schwierigkeiten. Doch ist daran zu erinnern, daß Löwe[1]) neuerdings Versuche mitgeteilt hat, die darauf hinweisen, daß die Wirkung der Digitalis in einer Erregbarkeitssteigerung im Verlauf des von ihm angenommenen intramuralen Reflexbogens des Herzens besteht. Löwe stellt Versuche in Aussicht, die zeigen sollen, ob die Digitalis an dem „Rückenmark" dieses Reflexbogens, nämlich den ganglionären Vorhofselementen angreift, ob also die Digitalis als das „Strychnin des Herzens" aufgefaßt werden muß. In die Entscheidung dieser noch ungeklärten Frage wollen wir mit unseren Versuchsergebnissen nicht eingreifen.

Versuchsanordnung.

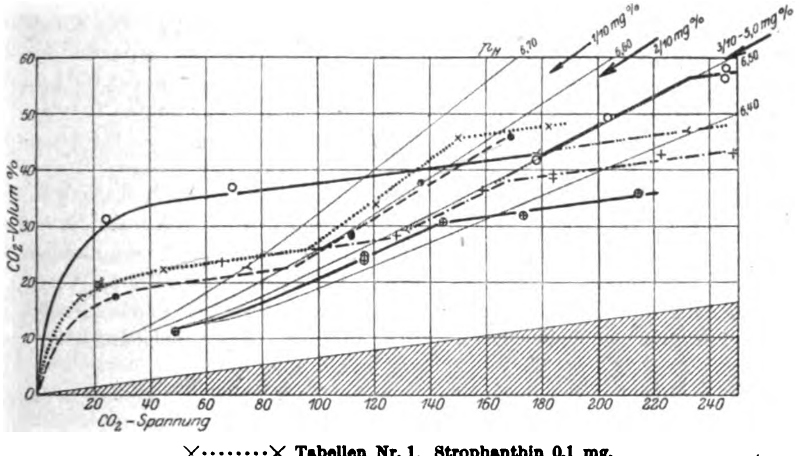
Wie in den früheren Versuchen wurde durch Venae punctio gewonnenes, durch Oxalat ungerinnbar gemachtes menschliches Blut in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, der wechselnde Mengen der zu prüfenden Digitaliskörper zugesetzt waren. Wir mußten gut wasserlösliche Digitaliskörper zu der Prüfung verwenden und konnten außerdem nur solche Präparate gebrauchen, deren im Handel befindliche Lösung keine Spur von Alkohol enthält, weil wir über die Wirkung des Alkohols auf unser Testobjekt nichts wissen. Nachdem die Körperchen mehrfach in der zu prüfenden Lösung gewaschen und so von jeder Spur von Serum befreit waren, wurde die Kohlensäurebindungskurve der Blutkörperchensuspension bestimmt. Wir haben, da es uns nur auf prinzipielle Feststellung des Wirkungsmodus ankam, unsere Prüfung auf einige wenige Digitaliskörper beschränkt. Geprüft wurde bisher Strophanthin (Böhringer), Verodigen und Digifolin. Zur Beurteilung der Wirkung sei daran erinnert, daß der Knick der Kohlensäurebindungskurve, der das Durchgängigwerden der roten Blutkörperchen anzeigt, bei Suspension in reiner Kochsalzlösung bei der Wasserstoffzahl $p_H = 6{,}67$ auftritt. Ersetzt man in der Suspensionsflüssigkeit einen Teil des Natriumchlorids durch gleiche Mengen Kaliumchlorid, so tritt der Knick schon früher, bei basischerer Reaktion ein, und zwar stets, wenn die Konzentration an Kaliumchlorid 0,03 Mol oder mehr beträgt, bei der Wasserstoffzahl 6,80. Calcium andererseits, in Konzentrationen von mindestens 0,0075 Mol der Suspensionsflüssigkeit zugesetzt, verschiebt

[1]) S. Löwe. Dtsch. med. Wochenschr. 1919, Nr. 52.

den Knick nach der saueren Seite, erschwert also das Durchgängigwerden der Zelle. Erreicht die Calciumkonzentration 0,03 Mol oder mehr, so liegt der Knick bei der Wasserstoffzahl 6,42. Die antagonistische Wirkung des Kaliums und Calciums, die aus zahlreichen Erscheinungen an der lebenden Zelle bekannt ist, wird durch diese Beobachtung bestätigt und bis zu einem gewissen Grade erklärt. Das im Kalium nachgewiesene, das Wasserstoffion unterstützende Prinzip hatten wir, nichts vorwegnehmend, mit dem Buchstaben b bezeichnet, das antagonistische, im Calcium wirksame dagegen mit dem Buchstaben a.

I. Strophanthin.

Werden der zum Waschen der roten Blutkörperchen verwendeten physiologischen Kochsalzlösung kleine Strophanthinmengen zugesetzt, so ergibt sich eine deutliche Verschiebung der Lage des Knicks der Kohlensäurebindungskurve. Bei Zusatz von $^1/_{10}$ mg Strophanthin zu 100 ccm



×·········× Tabellen Nr. 1. Strophanthin 0,1 mg.
● - - - - ● Tabellen Nr. 3. Strophantin 0,2 mg.
○———○ Tabellen Nr. 5. Strophanthin 0,3 mg.
≺- · · · · - ≺ Tabellen Nr. 9. Strophanthin 1 mg.
⊕———⊕ Tabellen Nr. 10. Strophanthin 5 mg.

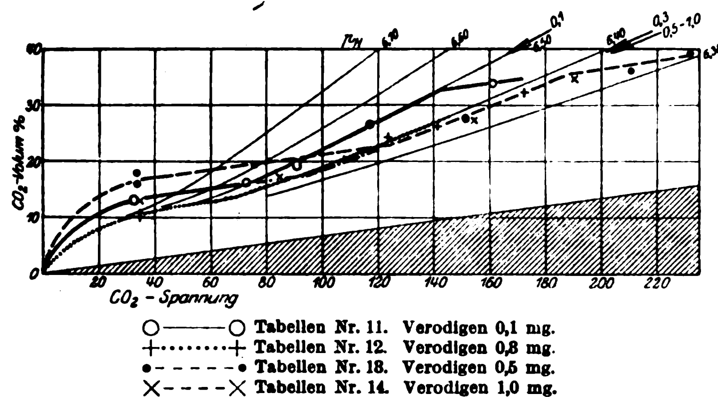
Abb. 1. Kohlensäurebindungskurven von Blutkörperchensuspensionen in physiologischer Kochsalzlösung mit Strophanthinzusatz. ×, ●, ○, ≺, ⊕ tatsächlich bestimmte Punkte. Abszisse: Partiardruck der Kohlensäure in mm Hg. Ordinate: Kohlensäurekapazität in Volumprozenten. Schraffiertes Dreieck am Unterrande: pysikalisch absorbierte Kohlensäure. Die von der linken unteren Ecke ausgehenden Kurven verbinden Punkte gleicher Wasserstoffzahl.

der Waschflüssigkeit (Abb. 1, liegende Kreuze, punktierte Kurve, Tabellen Nr. 1) ergibt sich für die im Knick liegenden Punkte die Wasserstoffzahl $p_H = 6{,}61$; 6,64. In einem zweiten Versuche (Tabellen Nr. 2) mit derselben Dosis fanden sich im Knick die Werte $p_H = 6{,}64$; 6,64; 6,64. Verdoppelung der Strophanthinmenge, $^2/_{10}$ mg auf 100 ccm Waschflüssigkeit, verschiebt den Knick stärker (Tabellen Nr. 3, Abb. 1, Punkte, gestrichelte Kurve und Tabellen Nr. 4). Für die im Knick liegenden Punkte ergeben sich im ersten

Versuche (Nr. 3) die Werte $p_H = 6{,}57$; 6,56; 6,60; 6,58, im zweiten Versuche (Nr. 4) die Werte $p_H = 6{,}53$; 6,53; 6,50; 6,52. Daß im zweiten Versuche die Verschiebung eine etwas stärkere ist, kann an individuellen geringfügigen Verschiedenheiten in der Strophanthinempfindlichkeit der verwendeten Blutkörperchen liegen. Da wir aber eine solche schwankende Empfindlichkeit bei den bisherigen Versuchen mit Elektrolyten nicht gefunden haben, mit Ausnahme des Lanthans, so ist es wahrscheinlicher, daß bei diesem Strophanthinversuch wie bei den früheren Lanthanversuchen die kleine Verschiedenheit der Lage des Knicks durch den Pipettierfehler zu erklären ist und daß im Versuch Nr. 4 etwas mehr Strophanthin in der Waschflüssigkeit enthalten war als im Versuch Nr. 3. Handelt es sich doch um das Zupipettieren von nur 0,2 ccm Strophanthinlösung zu 100 ccm Waschflüssigkeit. Weitere Steigerung des Strophanthinzusatzes, $^3/_{10}$ mg auf 100 ccm Kochsalzlösung, ergibt eine noch stärkere Verschiebung. (Abb. 1, Ringe, ausgezogene Kurve, Tabellen Nr. 5, 6, 7.) Die Werte der Wasserstoffzahl des Knicks sind 6,50; 6,50; 6,51 bzw. 6,49; 6,50; 6,48 bzw. 6,50. Damit ist aber offenbar die endgültige Wirkung erreicht. Ein Zusatz von $^5/_{10}$ mg auf 100 ccm Waschflüssigkeit (Tabellen Nr. 8) ergibt für den Knick $p_H = 6{,}49$; 6,49. Weitere Steigerung, 1 mg Strophanthin auf 100 ccm Waschflüssigkeit (Abb. 1, Dreisterne, Kurve = Strich, 3 Punkte, Tabellen Nr. 9), ergibt $p_H = 6{,}49$; 6,51 und schließlich ergeben auch 5 mg Strophanthin auf 100 ccm Waschflüssigkeit (Abb. 1, Kreuzringe, ausgezogene Kurve, Tabellen Nr. 10) für den Knick die Werte $p_H = 6{,}55$; 6,47; 6,45; 6,46. Diese letzten Werte liegen nur ganz unbedeutend weiter rechts als die bei $^3/_{10}$ mg gefundenen. Da gerade die letzte Kurve sehr tief liegt, ist außerdem die Fehlerbreite für diese Punkte größer. Als Durchschnitt aller 15 Werte, die bei Konzentrationen zwischen $^3/_{10}$ und 5 mg erhalten wurden, findet sich demnach $p_H = 6{,}49$ als endgültige Lage des Strophanthinknicks.

II. Verodigen.

Von Verodigen, der Gitalinfraktion der Digitalisblätter, wurde zunächst 0,1 mg auf 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung zur Waschung verwendet. Schon diese kleine Menge ergibt eine starke Verschiebung (Abb. 2, Ringe, ausgezogene Kurve, Tabellen Nr. 11). Die im Knick liegenden Punkte haben die $p_H = 6{,}50$; 6,48; 6,49; 6,50. Der Knick hat also dieselbe Lage, die mit maximalen Strophanthindosen erreichbar ist. Steigerung der Dosis, 0,3 mg auf 100 ccm Waschflüssigkeit (Abb. 2, stehende Kreuze, punktierte Kurve, Tabellen Nr. 12) verschiebt weiter. Im Knick liegen die Werte $p_H = 6{,}40$; 6,42; 6,38; 6,38. Weitere Steigerung, 0,5 mg auf 100 ccm, ergibt nur noch eine ganz unbedeutende weitere Verschiebung (Abb. 2, Punkte, gestrichelte Kurve, Tabellen Nr. 13). Im Knick findet sich $p_H = 6{,}35$; 6,34. Damit ist die endgültige Lage erreicht. Denn 1 mg auf 100 ccm (Abb. 2, liegende Kreuze, gestrichelte Kurve, Tabellen Nr. 14) ergibt für den Knick ebenfalls $p_H = 6{,}34$; 6,35. Ein weiterer Versuch mit derselben Dosierung (Tabellen Nr. 15) hatte eine weniger starke Verschiebung zur Folge. Denn in diesem Falle lagen die bestimmten Werte bei



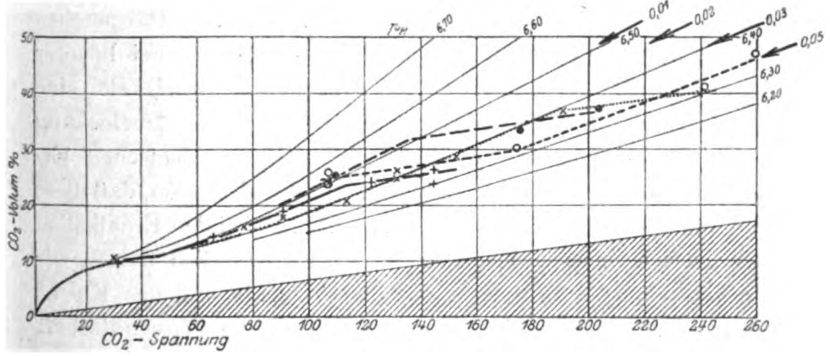
○———○ Tabellen Nr. 11. Verodigen 0,1 mg.
+·········+ Tabellen Nr. 12. Verodigen 0,3 mg.
●- - - - - -● Tabellen Nr. 13. Verodigen 0,5 mg.
×- - - -× Tabellen Nr. 14. Verodigen 1,0 mg.

Abb. 2. Kohlensäurebindungskurven von Blutkörperchensuspensionen in physiologischer Kochsalzlösung mit Verodigenzusatz. Erklärung wie Abb. 1.

p_H = 6,45; 6,43; 6,42; 6,42; 6,43; 6,39. Weshalb die Wirkung im vorliegenden Falle etwas weniger stark war, vermögen wir nicht zu sagen. Mit mäßigen individuellen Schwankungen in dem Wirkungsgrade ist nach dem Ergebnis dieses Versuches offenbar zu rechnen. Als äußerste mit Verodigen erreichbare Wirkung muß jedenfalls die Wasserstoffzahl 6,35 angesprochen werden.

III. Digifolin.

Von Digifolin entspricht nach Angabe der Firma 1 ccm der Wirkung von 0,1 g Folia Digitalis. 0,1 ccm dieser Digifolinlösung auf 100 ccm Waschflüssigkeit (Abb. 3, Punkte, gestrichelte Kurve, Tabellen Nr. 16) verschiebt den Knick auf p_H = 6,51. Erhöhung der Konzentration auf 0,2 ccm zu 100 (Abb. 3, stehende Kreuze, ausgezogene Kurve, Tabellen Nr. 17) bewirkt



●- - - - - -● Tabellen Nr. 16. Digifolin 0,1 ccm.
+———+ Tabellen Nr. 17. Digifolin 0,2 ccm.
×·········× Tabellen Nr. 18. Digifolin 0,3 ccm.
○- - - -○ Tabellen Nr. 19. Digifolin 0,5 mg.

Abb. 3. Kohlensäurebindungskurven von Blutkörperchensuspensionen in physiologischer Kochsalzlösung mit Digifolinzusatz. Erklärung wie Abb. 1.

weitere Verschiebung auf $p_H = 6{,}51$; 6,47. Mit 0,3 ccm auf 100 (Abb. 3, liegende Kreuze, punktierte Kurve, Tabellen Nr. 18) liegt der Knick bei $p_H = 6{,}48$; 6,44; 6,38; 6,39; 6,43; 6,38; 6,39. Die ersten dieser Werte sind wenig genau, weil die Linien gleicher Wasserstoffzahl in dieser Lage sehr nahe zusammenliegen. Der Wert 6,39 muß demnach, wie auch ein Blick auf Abb. 3 zeigt, als der richtige Durchschnittswert angesehen werden. 0,5 ccm Digifolin schließlich auf 100 ccm Kochsalzlösung (Abb. 3, Ringe, gestrichelte Kurve, Tabellen Nr. 19) ergeben für den Knick die Werte $p_H = 6{,}32$; 6,30; 6,33. Bei einem zweiten Versuch mit derselben Konzentration (Tabellen Nr. 20) liegt der Knick frühestens bei derselben Wasserstoffzahl. Bei der etwas höheren Lage der Bindungskurve konnte in diesem Versuch der Knick überhaupt nicht erreicht werden. Ob also mit der Wasserstoffzahl 6,32, die der Versuch Nr. 19 für die Lage des Knicks ergeben hatte, die endgültige Verschiebung schon erreicht ist, oder ob höhere Konzentrationen eine noch stärkere Verschiebung bewirken würden, kann nicht mit voller Sicherheit gesagt werden. Aus äußeren Gründen waren wir nicht in der Lage, noch weitere Versuche mit höheren Konzentrationen anzustellen.

Die mit drei verschiedenen Digitaliskörpern angestellten Versuche haben also ein im Prinzip durchaus einheitliches Ergebnis. Alle drei Digitaliskörper verschieben den Knick der Kohlensäurebindungskurve nach rechts, d. h. es ist eine deutlich saurere Reaktion erforderlich als ohne Digitaliszusatz, ehe die Anionen in die roten Blutkörperchen eindringen und mit dem Hämoglobin in Reaktion treten können. Wenn man an der Membranvorstellung festhalten wollte, so würde man sagen, daß die Durchgängigkeit der Membran durch Digitalis erschwert, hinausgeschoben, verzögert werde. Im Rahmen der physikalisch-chemischen Vorstellungen, auf die die früheren Versuche geführt haben, wird man sagen, daß die Plasmakolloide der Blutkörperchen in ihrer Entladung gehemmt werden, so daß erst bei höherer Wasserstoffionenkonzentration der Suspensionsflüssigkeit eine Entladung der Kolloide und damit ihre isoelektrische Ausflockung stattfinden kann. Mit den bisherigen pharmakologischen Erfahrungen steht es im besten Einklang, wenn wir finden, daß diese Wirkung durchaus der bei Calcium, überhaupt bei den Erdalkalien beobachteten entspricht. Auch bei den Erdalkalien hatten wir in entsprechender Dosierung dieselbe Verschiebung des Knicks festgestellt. Die auch bisher angenommene nahe Verwandtschaft der Wirkung von Digitalis und Calcium wird durch die Versuchsergebnisse vollkommen bestätigt. Die Frage, ob das Vorhandensein von Calcium in Suspensionsflüssigkeit oder Zelle eine unbedingte Voraussetzung für das Zustandekommen der Digitalis-

wirkung ist, kann nach diesen Versuchen verneint werden. Das verwendete Blut war durch Oxalat ungerinnbar gemacht und damit jedes Calcium entfernt worden. Bei dem wiederholten Waschen waren dann alle etwa noch vorhandenen oder aus den Blutkörperchen herausdiffundierenden Calciumspuren sicher entfernt. Dennoch trat die typische Digitaliswirkung jedesmal ein. An den Blutkörperchen wirkt also die Digitalis in gleichem Sinne wie Calcium, aber Calciumgehalt ist für die Wirkung nicht unentbehrlich. Es handelt sich also nicht um eine Sensibilisierung für Calcium durch Digitalis. Ein Unterschied der Digitaliswirkung gegenüber Calcium und allen andern Erdalkalien besteht in der Wirkung kleinster Dosen. Bei allen Erdalkalien hatte sich ergeben, daß die ganz kleinen Dosen eine dem Prinzip a antagonistische Wirkung entfalten, daß sie den Knick nach links verschieben, die Entladung der Zellen begünstigen und daß sie dadurch eine Eigenschaft besitzen, die dem Kalium und den andern Alkalien zukommt. Eine solche kaliumartige Wirkung, ein solches Prinzip b, hat sich bei keinem der geprüften Digitaliskörper gefunden.

Wie bei den früher geprüften Elektrolyten, so fand sich auch bei den Digitaliskörpern, daß kleine Dosen nur eine mäßige Verschiebung des Knicks in der zu erwartenden Richtung herbeiführen, daß Steigerung der Dosis die Wirkung verstärkt, daß aber schließlich ein Endwert erreicht wird, der bei weiterer Erhöhung der Dosis nicht überschritten werden kann. Der Endwert ist offenbar erreicht, wenn die Oberfläche mit der wirksamen Substanz gesättigt ist. Bemerkenswert und für die Theorie der Digitaliswirkung von Interesse ist die Tatsache, daß der Wirkungsgrad von der Giftkonzentration der Waschflüssigkeit abhängig ist, daß es sich also um einen Gleichgewichtszustand zwischen Lösung und Zelle handelt. Eine Anreicherung, Stapelung des Giftes über diesen Gleichgewichtszustand hinaus tritt nicht ein, sonst müßte sich auch bei niedriger Giftkonzentration der Waschflüssigkeit durch sehr häufig wiederholtes Waschen mit immer neuer Giftlösung eine maximale Sättigung der Zelloberflächen erreichen lassen. Da wir stets mit 100 ccm Waschflüssigkeit eine kleine Menge von Blutkörperchen gewaschen haben, müßte in dem letzterwogenen Falle bei allen Versuchen dieselbe maximale Giftwirkung zur Beobachtung kommen.

Der erreichte Endwert ist für die drei geprüften Digitalissubstanzen verschieden. Nach Strophanthinzusatz in ausreichender Dosis liegt der Knick bei $p_H = 6,49$, mit Verodigen bei 6,35 und mit Digifolin ist der Knick bei $p_H = 6,32$ vielleicht noch nicht ganz erreicht. Möglicherweise hängt dieser Unterschied mit der verschieden großen Oberflächenaktivität der drei Körper zusammen. Doch sind wir dabei auf bloße Vermutungen angewiesen, solange vergleichende Untersuchungen über die Oberflächenaktivität der drei Körper nicht vorliegen. Ob dem Unterschied in der Lage des Endwertes eine biologische Bedeutung zukommt, vermögen wir nicht zu entscheiden. Es läßt sich auch nicht sagen, ob die therapeutische Digitaliswirkung überhaupt bis zum Endwerte der Wirkung getrieben wird, oder ob die erwünschte Wirkung auf einer Zwischenstufe stehen bleibt.

Nach den mitgeteilten Versuchen ist anzunehmen, daß die Digitaliswirkung sich im Prinzip in derselben Weise an allen Zellen oder vielmehr vermutlich an allen oder wenigstens an bestimmten Kolloiden äußert. Wenn die Wirkung am ganzen Organismus, wie wohl als einwandfrei festgestellt angenommen werden muß, ganz vorwiegend sich auf das Herz konzentriert, so muß wohl zur Erklärung angenommen werden, daß sich die Digitaliskörper hauptsächlich an den Oberflächen der Erfolgsorgane im Herzen anreichern. Daß aber wenigstens beim Warmblüter auch andere Körperzellen dem Digitaliseinfluß unterliegen, zeigt die Erregung des Vagus- und Brechzentrums, die schon bei therapeutisch möglichen Dosen eintreten kann.

Zusammenfassung.

Setzt man einer physiologischen Kochsalzlösung, in der menschliche Erythrocyten suspendiert werden, Digitaliskörper zu, so werden die Körperchen bei Erhöhung des Säuregrades der Lösung durch Zutitrieren von Kohlensäure erst bei höherer Acidität anionendurchgängig als in reiner Kochsalzlösung.

Dieselbe Änderung der Durchgängigkeit war auch unter dem Einfluß von Calcium- und anderen Erdalkalikationen in geeigneter Konzentration beobachtet worden. Sie ist der Wirkung des Kaliumions antagonistisch. Die pharmakologische Lehre, daß die Digitaliswirkung in Beziehung zur Calciumwirkung steht, wird dadurch bestätigt und ein tieferer Einblick in die Art dieser Beziehungen ermöglicht.

Mit Strophanthinzusatz tritt die Entladung der Zellkolloide unter den eingehaltenen Versuchsbedingungen bei $p_H = 6{,}49$ ein, mit Verodigen bei $p_H = 6{,}35$, mit Digifolin frühestens bei $p_H = 6{,}32$, vielleicht noch später. Ob diesen Unterschieden im erreichten Endwerte eine biologische Bedeutung zukommt, kann auf Grund der Versuche nicht entschieden werden.

Versuchsprotokolle.

I. Strophantin.

1. Abb. 1. Kurve 1. Liegende Kreuze, punktierte Kurve.

Strophanthin 0,1 mg. HCl norm. 0,3 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	15,0	44,4	120,2	150,0	182,3
CO_2-Kapazität	17,4	22,2	**33,7**	**45,7**	47,6
p_H	7,34	6,93	**6,61**	**6,64**	6,55

Knick. (6,61 – 6,64)

2. Strophanthin 0,1 mg. HCl norm. 0,3 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	41,4	106,6	121,8	170,9
CO_2-Kapazität	17,2	**31,3**	**36,0**	40,0
		31,1		
p_H	6,85	**6,64**	**6,64**	6,50
		6,64		

Knick. (6,64 – 6,64)

3. Abb. 1. Kurve 2. Punkte, gestrichelte Kurve.

Strophanthin 0,2 mg. HCl norm. 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	27,8	111,6	136,4	169,0
CO_2-Kapazität	17,5	**28,7**	**37,8**	**45,9**
		28,1		
p_H	7,05	**6,57**	**6,60**	**6,58**
		6,56		

Knick. (6,57 – 6,58)

4. Strophanthin 0,2 mg, HCl norm. 0,2 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	18,2	65,6	120,7	213,4	261,6
CO_2-Kapazität	21,0	45,6	48,4	54,3	63,7
	21,9		49,9	53,9	66,8
p_H	7,33	7,05	6,78	**6,53**	**6,50**
	7,35		6,79	**6,53**	**6,52**

Knick. (6,53 – 6,52)

5. Abb. 1. Kurve 3. Ringe, ausgezogene Kurve.
Strophanthin 0,3 mg, HCl norm. 0,1 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	24,3	69,3	177,1	203,4	245,7
CO_2-Kapazität	31,3	36,8	**41,8**	**49,3**	58,2
			41,6		56,4
p_H	7,36	6,94	**6,50**	**6,51**	6,49
			6,50		6,47
			Knick.		

6. Strophanthin 0,3 mg. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	24,6	128,8	171,6	215,0	284,3
CO_2-Kapazität	36,6	49,6	52,3	**50,4**	**70,1**
					67,5
p_H	7,42	6,76	6,63	**6,49**	**6,50**
					6,48
					Knick.

7. Strophanthin 0,3 mg, HCl Mol 0,3 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	21,7	63,4	89,3	119,5	142,8	168,0	214,3
CO_2-Kapazität	7,8	9,8	**20,0**	24,0	24,6	25,7	29,6
p_H . . .	6,81	6,29	**6,50**	6,43	6,33	6,22	6,16
			Knick.				

8. Strophanthin 0,5 mg, HCl Mol 0,13 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	22,0	65,5	128,0	158,4	184,0	222,2	248,8
CO_2-Kapazität	19,2	23,6	**28,4**	**36,3**	38,4	42,6	42,9
					39,2		41,4
p_H . . .	7,21	6,76	**6,49**	**6,49**	6,43	6,37	6,30
			Knick.		6,44		6,28

9. Abb. 1. Kurve 4. Dreisterne. Kurve = Strich, 3 Punkte.
Strophanthin 1 mg, HCl Mol 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	21,7	74,8	131,1	178,1	232,1
CO_2-Kapazität	19,9	22,6	**29,2**	**43,0**	47,0
	20,1				
p_H	7,23	6,67	**6,49**	**6,51**	6,40
	7,23		Knick.		

10. Abb. 1. Kurve 5. Kreuzringe. Ausgezogene Kurve.
Strophanthin 5 mg. HCl Mol 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	48,3	116,2	144,3	173,1	214,2
CO_2-Kapazität	**11,1**	**24,8**	**30,7**	31,7	35,7
		23,8			
p_H	**6,55**	**6,47**	**6,46**	6,36	6,29
		6,45			
		Knick.			

II. Verodigen.

11. Abb. 2. Kurve 1. Ringe, ausgezogene Kurve.

Verodigen 0,1 mg. HCl Mol 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	32,4	72,7	90,9	117,0	161,0
CO_2-Kapazität	13,0	**16,2**	**19,3**	**26,6**	33,9
	13,1		**19,7**		
p_H	6,83	**6,50**	**6,48**	**6,50**	6,44
	6,83		**6,49**		
			Knick.		

12. Abb. 2. Kurve 2. Stehende Kreuze, punktierte Kurve.

Verodigen 0,3 mg. HCl Mol 0,15 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	34,4	107,4	123,6	141,1	172,2
CO_2-Kapazität	10,0	**20,3**	**24,3**	**26,1**	**32,3**
	10,6				
p_H	6,69	**6,40**	**6,42**	**6,38**	**6,38**
	6,71			Knick.	

13. Abb. 2. Kurve 3. Punkte, gestrichelte Kurve.

Verodigen 0,5 mg. HCl Mol 0,15 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	33,2	75,6	151,6	210,7	231,6
CO_2-Kapazität	17,9	19,4	**27,9**	36,1	38,3
	15,9		**27,5**		
p_H	6,98	6,59	**6,35**	6,31	6,28
	6,93		**6,34**		
			Knick.		

14. Abb. 2. Kurve 4. Liegende Kreuze, gestrichelte Kurve.

Verodigen 1,0 mg. HCl Mol 0,15 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	34,4	84,4	154,8	190,3
CO_2-Kapazität	12,9	17,1	**27,3**	**34,8**
p_H	6,81	6,45	**6,34**	**6,35**
			Knick.	

15. Verodigen 1,0 mg. HCl Mol 0,1 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	36,9	86,1	128,1	162,7	181,1	204,0	241,2
CO_2-Kapazität	20,4	25,4	**26,9**	**33,1**	**36,6**	**42,8**	**47,8**
	21,7				**36,6**		
p_H	6,99	6,65	**6,45**	**6,43**	**6,42**	**6,43**	**6,39**
	7,01				**6,42**		

III. Digifolin.

16. Abb. 3. Kurve 1. Punkte, gestrichelte Kurve.

Digifolin = 0,01 Fol. Digital. HCl Mol 0,15 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	109,6	175,6	203,3
CO_2-Kapazität	**25,3**	33,4	37,2
p_H	**6,51**	6,38	6,35
	Knick.		

17. Abb. 3. Kurve 2. Stehende Kreuze, ausgezogene Kurve.

Digifolin = 0,02 Fol. Digital. HCl Mol 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	31,1	65,5	90,5	122,0	144,3
CO_2-Kapazität	9,6	**14,3**	**18,9**	24,0	26,4
	9,9				23,8
p_H	6,72	**6,51**	**6,47**	6,42	6,37
	6,73	Knick.			6,30

18. Abb. 3. Kurve 3. Liegende Kreuze, punktierte Kurve.

Digifolin = 0,03 Fol. Digital. HCl Mol 0,13 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	29,8	76,6	90,3	113,4	131,2	152,3	190,7	239,5
CO_2-Kapazität	10,6	**16,2**	**17,9**	**20,9**	**24,8**	**28,6**	**36,9**	40,0
					26,3			
p_H	6,79	**6,48**	**6,44**	**6,38**	**6,39**	**6,38**	**6,39**	6,28
					6,43			
					Knick.			

19. Abb. 3. Kurve 4. Ringe, gestrichelte Kurve.

Digifolin = 0,05 Fol. Digital. HCl Mol 0,13 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm

CO_2-Spannung	106,9	174,3	241,1	259,3
CO_2-Kapazität	25,8	**30,1**	**41,2**	**47,0**
	23,7			
p_H	6,54	**6,32**	**6,30**	**6,33**
	6,50		Knick.	

20. Digifolin = 0,05 Fol. Digital. HCl Mol 0,14 ccm. NaCl 0,85% ad 100,0 ccm.

CO_2-Spannung	32,3	71,7	114,3	152,2	169,2	195,9	227,0
CO_2-Kapazität	25,3	25,3	30,6	31,1	35,5	35,6	37,7
p_H	7,15	6,75	6,59	6,43	6,44	6,35	6,29

Ein Beitrag zur Kenntnis des Gaswechsels bei Knaben.

Von

Gertrud Baumgardt und **Maria Steuber.**

(Aus der Krankenabteilung des Waisenhauses der Stadt Berlin in Rummelsburg und dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

(Eingegangen am 10. August 1920.)

Der Kraftwechsel bei Kindern ist von Sondén und Tigerstedt[1]), Magnus-Levy und Falk[2]), Rubner[3]), Erich Müller[4]) und Du Bois[5]) studiert worden. Die Ergebnisse der Untersuchungen stimmen im ganzen gut überein. Sie sind in Tabelle I zusammengestellt. Die Versuchsresultate dieser Autoren sollten alle Ruhewerte darstellen, d. h. es sollte jedes durch Muskelarbeit bewirkte Plus an Energiebedarf ausgeschlossen werden. Die Bedingungen, unter denen sie gewonnen wurden, sind verschieden und halten strenger Kritik nicht durchweg stand.

Es war nun unser Bemühen, in mehreren langdauernden Respirationsversuchen noch günstigere Bedingungen zur Ausschaltung jedes den Ruhebedarf übersteigenden Energieverbrauchs zu schaffen.

Wir haben an 2 Knaben im Alter von 11—13 Jahren Respirationsversuche angestellt — ursprünglich im Rahmen einer anderen Versuchsreihe[6]), deren wechselnde Bedingungen aber

---

[1]) Sondén und Tigerstedt, Skandinav. Arch. f. Physiol. **6**.

[2]) Magnus-Levy und Falk, Engelmanns Archiv 1899, Suppl. 3/4.

[3]) Rubner, Beiträge zur Ernährung im Knabenalter 1902.

[4]) Erich Müller, Unveröffentlichte Arbeiten. Zeitschr. f. Kinderheilk. **7**. 1913.

[5]) Du Bois, Arch. of Intern. Medic. **17**. 1916; Jahrb. f. Kinderheilk. **84**. 1916.

[6]) G. Baumgardt, Der Einfluß des Basensäureverhältnisses der Nahrung auf den Kraft- und Stoffwechsel des Kindes. Arch. f. Kinderheilk. **69**.

Tabelle I[1]).

Ergebnisse der Respirationsversuche anderer Autoren.

Autor	Gewicht (der untersuchten Kinder)	Zahl (der untersuchten Kinder)		O_2-Verbrauch in der Minute				CO_2-Produktion in der Min.				24 stündiger Energiebedarf			
				pro kg		pro qm		pro kg		pro qm		pro kg		pro qm	
	kg	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen	Knaben	Mädchen
Magnus-Levy und Falk	10—15	2	—	9,49	—	180,5	—	7,78	—	161,5	—	65,6	—	1254,0	—
„	15—20	2	2	7,77	7,81	167,5	161,5	6,46	6,31	149,5	131	54,1	54,1	1167,0	1119,0
Erich Müller		1	1	8,26	6,99	180,4	154,6	6,09	5,34	133,2	118,1	56,2	47,9	1228,4	1590
Magnus-Levy und Falk	20—25	2	1	7,38	5,63	166	132	6,15	5,18	138,5	121	54,1	40,1	1156,5	940,5
Erich Müller		6	2	7,34	6,58	169,9	149,8	5,49	5,45	127,1	124	50,1	45,8	1160,2	1042,9
Magnus-Levy und Falk	25—30	1	1	6,24	5,36	154	128	5,04	4,42	122	105	43,3	37,2	1067,4	889,4
Erich Müller		3	2	6,21	6,12	155,0	152,4	4,61	4,48	115,1	111,5	42,3	41,6	1056,6	1036,5
Du Bois[2])		1		5,88	—	159,7	—	5,02	—	136,2	—	45,6	—	1130,4	—
Sondén und Tigerstedt[2])	30—35	1		—	—	—	—	4,83	—	119,3	—	—	—	—	—
Magnus-Levy und Falk		1	2	6,28	5,45	159	141,5	5,23	4,72	133	122,5	43,7	38,2	1107,5	992,3
Erich Müller		1	2	6,74	5,50	176,2	147,9	4,53	3,95	118,3	106,1	45,2	34,2	1180,8	1002,4
Du Bois[2])		4		6,08	—	171,4	—	5,03	—	140,7	—	43,2	—	1108,8	—
Sondén und Tigerstedt[2])	35—40	1		—	—	—	—	4,45	—	116,7	—	—	—	—	—
Magnus-Levy und Falk		4	1	5,03	5,28	137,5	141	4,26	4,33	116	116	35,2	36,7	962,9	979,7
Erich Müller		1	—	5,76	—	157,2	—	3,97	—	108,3	—	38,7	—	1055,1	—
Du Bois[2])		3	—	5,42	—	159,5	—	4,87	—	143,1	—	40,1	—	1072,8	—

[1]) Literatur: Magnus-Levy u. Falk l. c. — Sondén u. Tigerstedt l. c. — Erich Müller: Unveröffentlichte Arbeiten. — Du Bois, Arch. of Intern. Medic. 17, 1916.

[2]) Auf Grund der Mineralwerte berechnet.

mit Sicherheit ohne Einfluß auf den Gaswechsel gewesen sind, so daß wir die Ergebnisse der Versuche als physiologische Werte betrachten können[1]).

Die Versuche wurden im pneumatischen Kabinett des tierphysiologischen Instituts der Landwirtschaftlichen Hochschule in der von Zuntz ausgearbeiteten Weise vorgenommen.

Es sei an dieser Stelle in aufrichtiger Dankbarkeit des regen Interesses gedacht, mit dem N. Zuntz uns bei dieser Arbeit trotz seines schweren Leidens stets hilfsbereit zur Seite stand und sogar die Berechnungen zum Teil selbst ausführte.

Die Versuchsanordnung war folgende: Die Kinder wurden abends, nachdem sie $2^1/_2$—3 Stunden nichts zu sich genommen hatten, in dem gut ventilierten pneumatischen Kabinett untergebracht. Sie lagen am Boden auf Matratzen bequem nebeneinander. Nachdem die Kammer verschlossen war, wurde durch ein nach außen leitendes Rohr eine Probe der mittels Ventilator gut durchmischten Luft entnommen, alsdann das Rohr wieder verschlossen. Durch ein Glasfenster, durch welches wir auch die Versuchskinder dauernd gut beobachten konnten, wurde nun stündlich der Stand eines in der Kammer befindlichen Psychrometers abgelesen. Ein kleines außen angebrachtes Manometer zeigte den Innendruck an. Es war unser Bemühen, diesen letzteren so konstant wie möglich zu halten, um den stets eintretenden geringen Gasaustausch mit dem umgebenden Raum auf ein Minimum zu beschränken. Zu diesem Zweck, den wir auch erreicht zu haben glauben, regulierten wir die Temperatur im umgebenden Raum, indem wir dort nach Bedarf einen Gasofen heizten oder die Tür nach dem Hof öffneten. — Wir überwachten die Versuche selbst.

Den Kindern war eingeprägt worden, sich ganz ruhig zu verhalten, was sie auch taten[2]). Sie schliefen sehr bald ein und lagen im Schlaf sehr still. Außer ein- bis zweimaligem Aufsitzen zum Urinieren und gelegentlichem Umdrehen auf dem Lager wurden keine willkürlichen Muskelbewegungen ausgeführt. Wir sahen auf Rat von N. Zuntz davon ab, diese geringen Leistungen zu

[1]) Die Frage, ob der Energiebedarf nicht nur von Gewicht und Oberfläche, sondern auch vom Lebensalter abhängt, kann hier nicht entschieden werden und bleibe unberücksichtigt.

[2]) Auf eine Ausnahme wird noch zurückzukommen sein.

registrieren und zu berechnen. Die Versuche dauerten genau je 10 Stunden. Des Morgens wurde wieder die Kammerluft eine Viertelstunde lang mit dem Ventilator gut durchmischt und dann eine Probe entnommen. Anfangs- und Endgas wurden analysiert.

Der Berechnung liegt folgender Gedankengang zugrunde: Es wird erst der Gehalt der Kammerluft an CO_2, O_2 und N in dem Anfangs- und Endgas bestimmt, alsdann berechnet, wieviel CO_2 und O_2 mit der infolge des leichten Überdrucks ausgeströmten Luft verlorenging und hieraus die wahre CO_2-Produktion und O_2-Aufnahme berechnet.

Bekannt sind: Volumen der Kammer, ferner Luftdruck, Psychrometerstand, Temperatur bei Entnahme der Anfangs- und Endgasprobe und — aus den Analysen — der prozentuale Gehalt der Luft in der Kammer an CO_2, O_2 und N bei Beginn und Schluß des Versuches.

Es wird nun das Luftvolumen auf 760 mm Hg Druck und 0° Temperatur reduziert. Hierbei muß als bestehender Druck der Barometerstand minus Höhe der Wasserspannung angesehen werden, welch letztere aus der psychrometrischen Differenz zu ermitteln ist. — Auf diese reduzierte Gasmenge wird nun der Gehalt an CO_2, O_2 und N bezogen und die Werte des Anfangs- und Endgases miteinander verglichen. Die Zusammensetzung der durch die Undichtigkeit des pneumatischen Kabinetts ausgeströmten Luft wird mit dem Mittel des Anfangs- und Endgases in Rechnung gesetzt; es kann so berechnet werden, wieviel CO_2 und O_2 der verlorengegangenen Menge von N entsprachen. Berücksichtigt man diese Verluste, so erhält man die Werte der wahren CO_2-Produktion und O_2-Aufnahme.

Beispiel: Versuch vom 21. III. 1919 9 Uhr abends bis 22. III. 1919 7 Uhr früh.

Das Kammervolumen beträgt abzüglich des von den Kindern, Matratze usw. eingenommenen Raumes[1]) 7859 Liter. Die aus dem Protokoll ersichtlichen Unterlagen sind folgende:

Datum	Manometerstand in mm H_2O	Thermometer in der Kammer feucht	Thermometer in der Kammer trocken	Barometerstand
21. III. 9h abds.	+3	16,8	21,0	749,8
22. III. 7h früh	+3	18,9	20,5	744,6

[1]) Hierbei ist 1 kg = 1 l gesetzt.

Die Rechnung gestaltet sich nach N. Zuntz nun folgendermaßen:

Bei Beginn des Versuches:

Die psychrometrische Differenz 4,2° entspricht bei 21° einer H_2O-Spannung von 11,7 mm Hg

Wahrer Luftdruck[1]: 749,8
− 11,7
738,1 mm Hg

Volumen der Luft in der Kammer bei 21° Temp. und 738,1 mm Druck: 7896,9 Liter, bei 0° Temp. und 760 mm Druck: 6884 Liter.

Die Gasanalysen ergaben:

0,300% CO_2 20,592% O_2 79,108% N_2

Im Gesamtvolumen also 20,652 l CO_2 1417,6 l O_2 5445,8 l N_2

Bei Schluß des Versuches:

Die psychrometrische Differenz 1,6 entspricht bei 20,5° einer H_2O-Spannung von 15,2 mm Hg

Wahrer Luftdruck: 744,6
− 15,2
729,4 mm Hg

Volumen der Luft in der Kammer bei 20,5° Temp. und 729,4 mm Hg-Druck: 7896,9 Liter, bei 0° Temp. und 760 mm Hg-Druck: 6818,8 Liter.

Die Gasanalysen ergaben:

2,582% CO_2 18,232% O_2 79,186% N_2

Im Gesamtvolumen 176,1 l CO_2 1243,2 l O_2 5399,4 l N_2.

Der Unterschied gegenüber dem Anfangsgas beträgt also:

+ 155,41 l CO_2 − 174,4 l O_2 − 46,4 l N_2

Die bei dem Überdruck in der Kammer ausgetretene Luftmenge hatte die mittlere Zusammensetzung von

1,141% CO_2 19,412% O_2 79,146% N_2

79,146 l N_2 entsprechen also 1,141 l CO_2 und 19,412 l O_2,

46,4 l N_2 entsprechen dann 0,669 l CO_2 und 11,381 l O_2.

Wahre CO_2-Produktion:	Wahrer O_2-Verbrauch:
155,408 l	174,40 l
+ 0,669 l	− 11,38 l
156,077 l	163,02 l in 10 Std.

Die Resultate unserer Versuche auf 24 Stunden bezogen sind in Tabelle II zusammengestellt. Unter den gut übereinstimmenden Werten fällt nur das Versuchsergebnis vom 16./17. IV. 1919 auf, das höher als die andern liegt. Hier haben die Kinder sich des Morgens nicht wie sonst ruhig verhalten, sondern mit einigen

[1] Der geringe Überdruck von 3 mm H_2O kommt nicht in Betracht.

Tabelle II.

Ergebnisse unserer Respirationsversuche (auf 24 Std. berechnet.)

Datum	Gewicht d. Versuchskinder	Oberfläche d. Versuchskinder	CO_2-Produktion (Liter)			O_2-Verbrauch (Liter)			Calorienzufuhr			R. Q.
	kg	qm	absol.	kg	qm	absol.	kg	qm	absol.	kg	qm	
						I. Periode.						
4./5. II.	50,7	2,075	354,4	6,99	170,8	370,7	7,31	178,7	1844	36,5	892,8	0,96
6./7. II.	50,7	2,075	339,7	6,7	163,7	368,1	7,62	186,1	1893	37,3	911,7	0,88
						II. Periode.						
21./22. III.	52,2	2,114	374,6	7,2	177,2	385,7	7,4	182,6	1955	37,5	925	0,96
26./27. III.	52,2	2,114	380,7	7,3	180,1	378,7	7,3	179,1	1911	36,6	905	1,005
						III. Periode.						
14./15. IV.	52,9	2,135	346,1	6,5	162,1	385,6	7,28	180,6	1897,7	35,9	888,9	0,898
16./17. IV.	52,9	2,135	405,0	7,7	189,7	422,3	7,98	197,8	2099	39,7	983	0,96
						IV. Periode.						
11./12. VI.	54,1	2,166	361,2	6,7	166,8	411,5	7,6	190,0	2028,9	37,3	932,2	0,88
13./14. VI.	54,1	2,166	355,2	6,6	156,6	395,5	7,3	182,6	1947	36,0	898,8	0,90

Püffen einen kleinen Streit ausgetragen. Die Werte von 39,7 Calorien für 1 kg Körpergewicht und 983 Calorien für 1 qm Oberfläche stellen schon nicht mehr den reinen Grundumsatz dar. Im Durchschnitt betrug der Erhaltungsbedarf, wenn wir diesen nicht ganz einwandfreien Versuch vom 16./17. IV. unberücksichtigt lassen, 36,72 Calorien für 1 kg Körpergewicht und 907 Calorien für 1 qm Oberfläche in 24 Stunden — bei einer O_2-Aufnahme von 5,2 ccm pro kg Körpergewicht und 128,2 ccm pro qm Oberfläche und einer CO_2-Produktion von 4,8 bzw. 118,8 ccm in der Minute.

Ein Vergleich dieser Ergebnisse mit den in Tabelle I zusammengestellten zeigt, daß unsere Werte tiefer liegen als die der früheren Autoren, die an etwa gleich schweren Kindern Respirationsversuche anstellten[1]). Offenbar sind die anderen Versuche doch nicht dem reinen Grundumsatz so nahegekommen wie unsere, die ihn nur um die geringe Verdauungsarbeit überstieg.

Auffallend erscheint noch der hohe respiratorische Quotient, der ein Ausdruck des Reichtums der Nahrung an Kohlehydraten — bzw. ihrer Armut an Eiweiß und besonders Fett — ist. Daß der respiratorische Quotient durch Fettbildung erhöht worden ist, kann in einigen Versuchen

[1]) Dem Lebensalter kommt in dieser Lebensperiode sicher keine wesentliche Bedeutung zu.

als wahrscheinlich betrachtet werden; sicher ist es in dem Versuch am 26./27. III. der Fall gewesen. Hier erreicht der RQ den Wert 1,0. Es muß, da neben Kohlenhydraten auch Fett und Eiweiß gereicht worden ist, durch Fettbildung soviel Sauerstoff frei geworden sein, wie zur Oxydation der O_2-ärmeren Verbindungen — Eiweiß, Fett — gebraucht wurde.

Wir haben auch den Brennwert der zugeführten Nahrung und des Kotes in Perioden von 7 Tagen bestimmt, und zwar fallen in jede solche Periode 2 Respirationsversuche. Da die Kinder offenbar ausreichend ernährt waren, im Durchschnitt weder fetter noch magerer wurden — also weder Energie zusetzten noch einsparten — läßt sich feststellen, wie groß ihr Gesamtumsatz war, d. h. mit welchen Energiemengen der Nahrung sie mit ihren Leistungen, die wohl als durchschnittlich für Jungen in diesem Alter gelten können, auskamen. Der Brennwert der Nahrung betrug im Durchschnitt 69,3 Calorien für 1 kg und 1798 Calorien für 1 qm Oberfläche in 24 Stunden.

Die für diese lebhaften Kinder notwendige Calorienzufuhr war hiernach höher als nach den Arbeiten von Uffelmann[1]), Camerer[2]), Siegert[3]) und Lungwitz[4]); am nächsten stehen sie den Werten von Herbst. Die Werte von Erich und Franz Müller[5]) sind sehr hoch, was wohl auf besonders große Lebhaftigkeit der Kinder zurückzuführen ist.

Der relativ große Gesamtbedarf neben dem Umsatz bei Körperruhe läßt erkennen, daß die Muskelarbeit der Knaben von normaler Lebhaftigkeit doch recht hoch zu veranschlagen ist. Der „Leistungszuwachs" beträgt bei unseren Versuchskindern 88,7%, also erheblich mehr als Schloßmann[6]) und Stargerdter[7]) herausrechneten[8]).

---

[1]) Zit. nach Lungwitz.

[2]) Camerer, Stoffwechsel des Kindes. Tübingen 1896.

[3]) Siegert, Verhandlungen der Gesellschaft der Kinderheilkunde. Stuttgart 1906.

[4]) Lungwitz, Stoffwechselversuche über den Eiweißbedarf des Kindes. Halle 1908.

[5]) E. u. F. Müller, Veröffentlichungen der Zentralstelle für Balneologie 3, H. 6.

[6]) Schloßmann, Handbuch der Kinderheilk. I.

[7]) Stargerdter, Arch. f. Kinderheilk. 57. 1912.

[8]) In der Tat ist der Leistungszuwachs noch größer, da im Respirationsversuch infolge der unvollständigen Ausschaltung der Verdauungsarbeit nicht der reine Grundumsatz erfaßt ist.

Zusammenfassend läßt sich sagen: Bei weitgehender Ausschaltung aller Muskelarbeit ist der Ruheumsatz bei Knaben von 25,4—27,1 kg Körpergewicht im Respirationsversuch kleiner gefunden worden als in früheren Arbeiten (36,7 Calorien pro kg und 907,8 Calorien pro qm Oberfläche). Es ist zu vermuten, daß die übrigen in der Literatur bekannten Werte für Ruheumsatz bei Kindern auch zu hoch sind; offenbar ist die Muskelruhe der Versuchskinder weniger vollkommen erreicht worden als in unseren Versuchen.

Die gesamte Nahrungszufuhr der Kinder betrug 69,3 Rohcalorien pro kg Körpergewicht bzw. 1798 Calorien für 1 qm Oberfläche, also etwas mehr als allgemein berechnet wurde.

Der hohe Leistungszuwachs von über 88,7% des Grundumsatzes entspricht der diesem Alter eigenen Lebhaftigkeit. Selbstverständlich wird dieser Wert — und damit auch der des Gesamtumsatzes — weitgehenden Schwankungen unterliegen.

Zur Kenntnis der Gewöhnung. IV.

Über Gewöhnung an Kodeinderivate (Eukodal u. Parakodin).

Von

Johannes Biberfeld.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 12. August 1920.)

Mit 17 Abbildungen im Text.

Vom Kodein hat Bouma[1]) festgestellt, daß es trotz seiner nahen chemischen Verwandtschaft mit Morphin nicht zu den Giften gehört, an die Tiere gewöhnbar sind; die für Kodein charakteristischen Krämpfe traten bei seinen Hunden nach wiederholten Injektionen noch heftiger auf als bei nicht vorbehandelten Tieren. Doch hat schon Langer[2]) darauf aufmerksam gemacht, daß in Boumas Versuchsprotokollen eine partielle Gewöhnung erkennbar ist; in den ersten Tagen verzeichnet er eine leichte narkotische Wirkung (Benommenheit und Schläfrigkeit), später aber zeigten die Tiere nur die Symptome der Übererregbarkeit.

Langer selbst hat beim Heroin, das bei Hunden sowohl narkotisch wie erregend wirkt, gefunden, daß die Tiere durch fortgesetzte Injektionen an die narkotische Komponente gewöhnt werden können, nicht aber an die erregende.

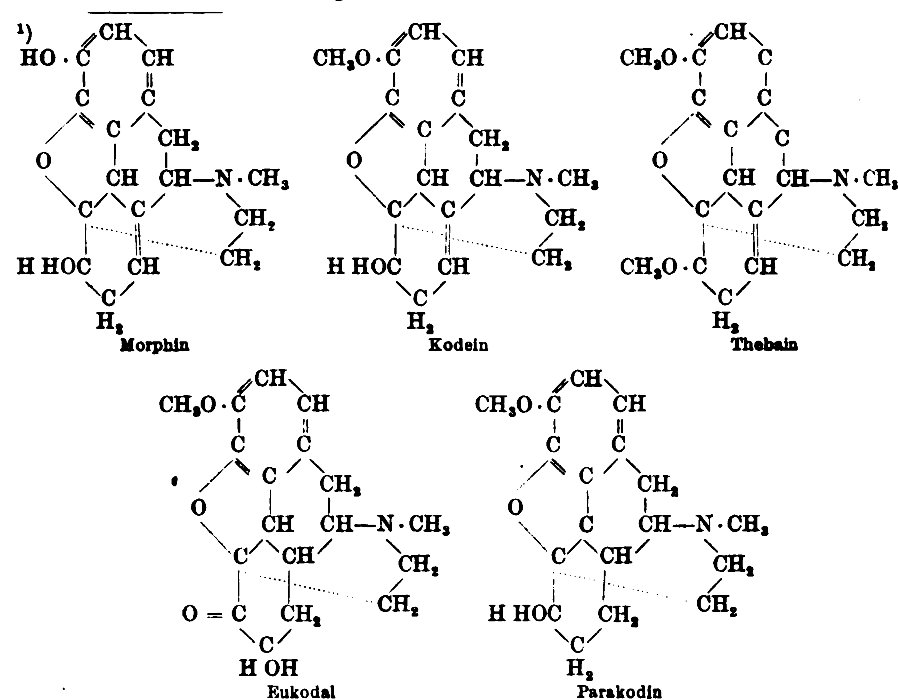
---

[1]) Jac. Bouma, Über Gewöhnungsversuche mit Kodein. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 50, 353.

[2]) Hans Langer, Über Heroinausscheidung und -gewöhnung. Diese Zeitschr. 45, 221.

In den letzten Jahren sind zwei Kodeinderivate — **Eukodal** und **Parakodin**[1]) — in die ärztliche Praxis eingeführt worden, denen eine stärkere sedative Wirkung, als sie dem Kodein eigen ist, zugeschrieben wird; besonders das Eukodal wird von manchen Verfassern als ein vollkommener Ersatz für Morphin angesprochen, ein Autor (**Falk**, Münch. med. Wochenschr. 1917, Nr. 12) gibt sogar an, es wirke auf das Großhirn stärker als Morphin. **Falk** behauptet auch, daß es selbst bei länger dauerndem Gebrauch seine Wirkung behalte, es gebe beim Menschen keine Gewöhnung an Eukodal. Dem wurde bald von anderen widersprochen; so von **König** (Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 14), der 1½ Jahre nach Einführung des Eukodals bereits über zwei Fälle von Eukodalismus berichtet. Wenn **Falk** in seiner Entgegnung (Berl. klin. Wochenschr. 1919, Nr. 19) fehlerhafte Verordnungsweise für den Mißerfolg verantwortlich macht — es seien von vornherein zu große Dosen gegeben worden —, so ist dies natürlich gleichbedeutend mit dem Zugeständnis der Gewöhnbarkeit[2]).

[1])



[2]) Ganz neuerdings wird wieder über einen Fall von Eukodalismus berichtet; A. **Alexander**, Münch. med. Wochenschr. 1920, S. 873.

Die bisher veröffentlichten Angaben über experimentell gesicherte Wirkungen des Eukodals[1]) sind sehr dürftig.

Falk schreibt in seiner ersten Mitteilung, daß es nach Untersuchungen von R. Heinz die Empfindlichkeit deutlich herabsetze, nicht krampferregend, sondern betäubend wirke. Die Atmung werde verlangsamt; 0,25 bringt bei großen kräftigen Kaninchen schwere Betäubung, aber nicht den Tod hervor. Falk selbst hat, wie er angibt, eine größere Anzahl von Tierversuchen gemacht, berichtet aber nicht genauer darüber. Er stellte fest, daß eine schädigende Wirkung auf das Herz fehlt. Dem narkotischen Stadium geht bei Kaninchen ein schnell vorübergehendes Reizstadium voraus. Auch bei Fröschen wirkt Eukodal rein narkotisch. An der Kaninchencornea setze es, ohne zu reizen, die Empfindlichkeit herab.

Genauere Angaben über systematisch angestellte Tierversuche gibt J. Vehres[2]). Er hat die Symptome der Eukodalwirkung bei Hunden, Katzen und Pferden genau beschrieben und die wirksamen Dosen festgestellt. Es lähmt bei Hunden das Großhirn (Herabsetzung der Sensibilität und Schlaf, aber nicht konstant), setzt die Puls- und meist auch die Atemfrequenz herab; bei Katzen und Pferden kamen dagegen nur Erregungserscheinungen vor — im ganzen also ebenso wie nach Morphin. Große, toxische Eukodalmengen versetzen die Hunde nicht in Schlaf (wie die entsprechenden Morphindosen), sondern erzeugen neben Benommenheit Unruhe und Krämpfe. — Eine schwache sedative Wirkung konnte Vehres am Hunde schon nach $^1/_3$ und $^1/_2$ mg pro kg subcutan feststellen, tödlich wirkte 0,05 pro kg.

Auch in meinen an Kaninchen angestellten Versuchen war stets eine recht starke sedative Wirkung auf das Großhirn, die sich als Schlaf äußerte, vorhanden; 5 mg Eukodal intravenös wirkten in dieser Hinsicht manchmal stärker, als man es nach 20 mg Morphin zu sehen gewohnt ist. Auch die Beeinflussung des Atemzentrums geht weit über die durch gleiche Dosen Morphins bewirkte hinaus. Als Beispiel führe ich die in den Abb. 1, 2a, 2b dargestellten Versuche an.

Die auch mit kleinen Mengen Eukodals erhaltenen Kurven erinnern an die nach Heroininjektion entstehenden; doch wirkt dieses noch stärker ein, wie die Abb. 3a und b zeigen: $1^1/_4$ mg läßt die Frequenz auf die Hälfte sinken und $2^1/_2$ mg verursachen schon lange Atempausen.

---

[1]) Eukodal wird aus Thebain dargestellt; M. Freund und Edm. Speyer, Münch. med. Wochenschr. 1917, Nr. 12.

[2]) Josef Vehres, Versuche über die Wirkung des Eukodals bei Hunden, Katzen und Pferden. Diss. Tierärztl. Hochschule Hannover 1919.

Abb. 1. 3. III. Kaninchen 1400. 11h 44′ 4 Atemzüge in 5″. 11h 45′ 5 mg Morph. hydrochl. in eine Ohrvene (↑), die Atmung wird flacher, die Frequenz sinkt auf 2—3 in 5″. — 1h 30′ Atmungsfrequenz noch etwas vermindert, Exkursionen stärker als normal. Atmungsschreibung mittels eines in ein Nasenloch eingeführten Glasröhrchens, Übertragung durch Gummischlauch auf eine Mareysche Kapsel.

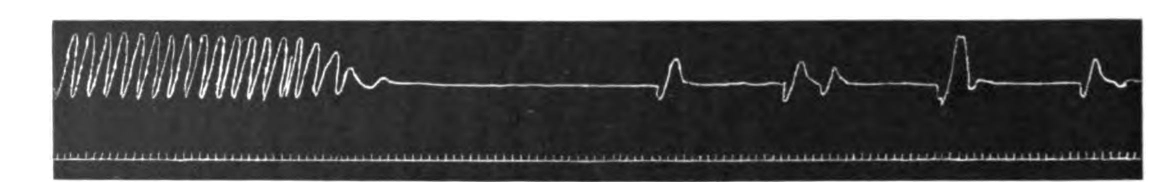


Abb. 2a. 5. III. 20. Dasselbe Tier wie in Abb 1. 9h 40′ 5—6 Atemzüge in 10″. 5 mg Eukodal in eine Ohrvene, die Atmung setzt für 85″ ganz aus, dann 1 Atemzug, ca. 10″ Pause, 2 Atemzüge. — 11h 15′ 2 Atemzüge in 5″.

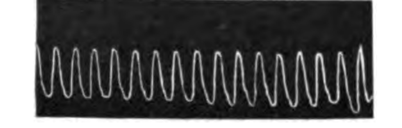


Abb. 2b. Fortsetzung von 2a. 11h 55′ Atmung normal.

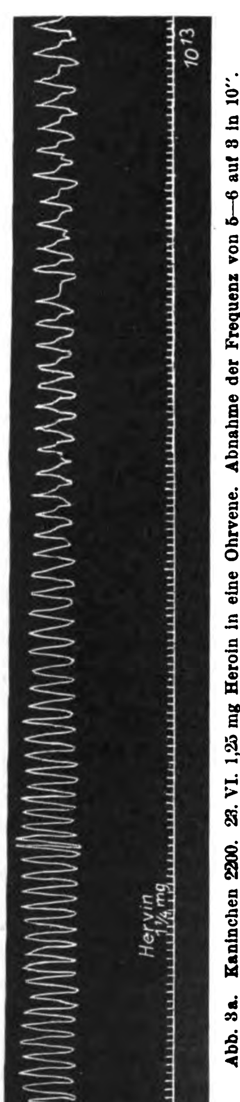


Abb. 3a. Kaninchen 2200. 23. VI. 1,25 mg Heroin in eine Ohrvene. Abnahme der Frequenz von 5—6 auf 3 in 10″.

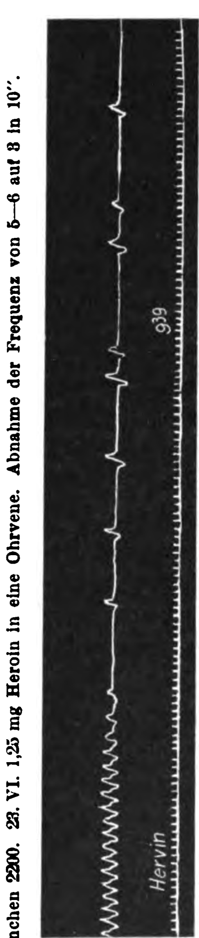




Abb. 3b. 24. VI. Dasselbe Tier wie in Abb. 3a, Gew. 2000. 2,5 mg Heroin in eine Ohrvene verursachen lange Atempausen.

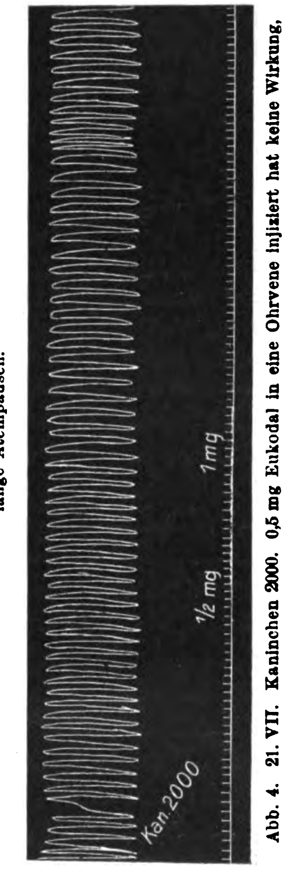


Abb. 4. 21. VII. Kaninchen 2000. 0,5 mg Eukodal in eine Ohrvene injiziert hat keine Wirkung, dann 1 mg: Abnahme der Frequenz von 8—9 auf 5—6 in 10″.

Trotzdem Eukodal in etwas höherer Dosis die Erregbarkeit des Atemzentrums soviel stärker herabsetzt als Morphin, ist doch die untere Grenze der Wirksamkeit bei beiden Alkaloiden ungefähr die gleiche. Vom Eukodal wirkt, wie Abb. 4 zeigt, $^1/_2$ mg intravenös noch nicht, erst auf die weitere Injektion von 1 mg kommt es zu einer ganz schwachen Verringerung der Frequenz, und auch für Morphin muß man 1—2 mg subcutan als geringste, auf die Atmung noch wirksame Menge annehmen[1]).

[1]) Vgl. Biberfeld, diese Zeitschr. **92**, 200 (Anm.).

Trotz der starken, an die des Heroins erinnernde Wirksamkeit des Eukodals (bezüglich Atmung) ist aber seine Gefährlichkeit bei weitem nicht dieselbe. Während schon 0,01 Heroin intravenös ein Kaninchen durch Atmungslähmung tötet, wird vom Eukodal die fünffache Menge vertragen, z. B. in folgendem Versuche:

Kan. 1900; 4h 35′ 0,05 Eukod alin eine Ohrvene, die Atmung sistiert, das Tier legt sich auf die Seite. Nach 2 Minuten erhebt es sich plötzlich, Kopf steif im Nacken, allgemeiner krampfartiger Tremor. Dieser kurzdauernde Anfall wiederholt sich noch zweimal, in der Zwischenzeit ist die Atmung etwas beschleunigt; während des Anfalls starke Protrusio bulbi. — Dann Verhalten ebenso wie nach den kleinen Dosen (Schlaf, seltene Atmung). 5h 43′ noch Schlaf, Atmung = 7—8 in 30″. — 6h Tier sitzt aufrecht, Atmung 25—26 in 30″; 6h 20′ Atmung 30 in 30″, sitzt.

Auffallend ist, wie in diesem Versuche nach der relativ großen Dosis neben der narkotischen die dem Thebain (und Kodein) eigene erregende Wirkung zum Vorschein kommt; hierauf ist es wohl zu beziehen, daß die schon bei 5 mg so starke Schädigung des Atemzentrums auch bei der 10fachen Dosis nicht zu tödlicher Atmungslähmung wird. — Auffallend ist ferner das schnelle Abklingen der Symptome; mit 0,05 Morphin erzielt man eine mehrere Stunden anhaltende Narkose. — Auch bei den kleineren Dosen Eukodal gingen die Erscheinungen immer im Verhältnis zu ihrer Intensität schnell vorüber.

Ein Versuch, Kaninchen an Eukodal zu gewöhnen, verlief folgendermaßen:

Kan. 2100; 22. VI. 5 mg in eine Ohrvene; Atmung setzt für ca. 1/2 Min. aus; dann stark verlangsamt (Abb. 5a), deutliche Betäubung.

23. VI. 2000; 0,005 Ohrvene; deutliche Narkose und Atmungsverlangsamung.

Bis zum 2. VII. täglich (mit Ausnahme des 27. VI.) 5 mg mit immer der gleichen Wirkung; die am 2. VII. auf die Injektion folgende Atmungsverlangsamung zeigt Abb. 5b. — Am 3. VII. wieder 5 mg und vom 6. bis 13. VII. täglich **10 mg** intravenös (mit Ausnahme des 11. VII.). — Am 14. VII. werden wieder nur 5 mg injiziert; wie Abb. 5c zeigt, ist die Wirkung auf die Atmung die typische, und auch die auf das Großhirn war unverändert.

Der Versuch beweist, daß die Dosis von 5 mg auch noch nach zehnmaliger Injektion unabgeschwächt wirksam ist, und daß das Tier auch durch die größere Dosis seine Empfindlichkeit gegen die kleine nicht verlor: nach siebenmaliger Injektion von 0,01 war die Wirkung von 5 mg immer noch die ursprüngliche



Abb. 5a. 22. VI. Kaninchen 2000, 5 mg Eukodal in eine Ohrvene, sofort langdauernde Atempause.



Abb. 5b. Dasselbe Tier wie in Abb. 5a. 2. VII. 20. Gew. 1830. 5 mg Eukodal in eine Ohrvene bewirken ebenso starke Atemschädigung wie am 22. VI.



Abb. 5c. 14. VII. 5 mg Eukodal ungeschwächt wirksam.

Ich habe weiterhin festgestellt, wie Eukodal auf den nach Magnus isolierten Kaninchendarm wirkt; 1 mg (zu 75 ccm) war unwirksam, 5 mg dagegen ließen, wie Abb. 6 zeigt, den Tonus sehr stark sinken und die rhythmischen Ausschläge auf ein Minimum herabgehen; 0,3 mg Pilocarpin war danach fast unwirksam. Auch in dieser Richtung wirkt also Eukodal stärker als Morphin.

Anders als bei Kaninchen verlief der Versuch, einen Hund an Eukodal zu gewöhnen[1]):

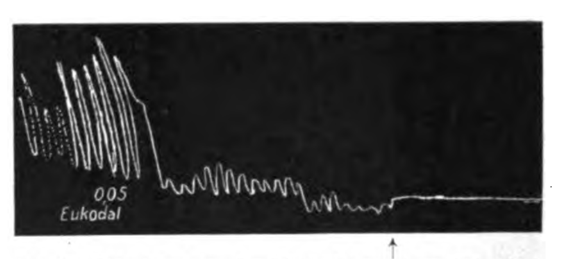


Abb. 6. Kaninchendarm, 5 mg Eukodal zu 75 ccm Flüssigkeit zugesetzt bewirken Sinken des Tonus und Verringerung der Pendelausschläge. 0,5 mg Pilokarpin (↑) lassen den Tonus nur schwach ansteigen.

23. II. 1920. Hund 7000; 10^h 0,05 Eukodal (= ca. 7 mg pro kg) subcutan. 10^h 2′ Harnentleerung, 10^h 4′ Defäkation; das vorher sehr unruhige Tier legt sich nieder. — Später leichter Schlaf, aus dem das Tier durch schwache Geräusche erweckt werden kann. — Pupille mittelgroß. — 12^h 30′ stellt sich auf.

25. II. 6800; 0,05 Morphin subcutan (9^h 25′); 9^h 27′ Defäkation, die sich noch mehrfach wiederholt. 9^h35′ Müdigkeit; später leichter Schlaf, deutlich tiefer als am 23.

26. II. 6500; sehr lebhaft, 10^h 15′ 0,1 Eukodal; 10^h 19′ schläft. — Kein Erbrechen. — Der Schlaf ist nicht tief, hält bis gegen 12^h 30′ an.

27. II. 6600; 9^h 55′ 0,1 Eukodal. 10^h 10′ leichter Schlaf; 12^h 30′ munter.

28. II. 6300; 9^h 25′ 0,1 Eukodal; 9^h 30′ leichter Schlaf bis gegen 11^h.

1. III. 6500; 9^h 35′ 0,1 Eukodal, Defäkation. 9^h 40′ Müdigkeit, Schlaf tritt nicht ein. Das Tier ist sehr schreckhaft. 10^h 30′ normal.

2. III. 6300; 9^h 15′ 0,1 Eukodal; nach 5 Min. leichter Schlaf, 10^h 30′ normal.

3. III. 6000; 9^h 15′ 0,1 Eukodal; nach 2 Min. legt es sich nieder, kein Schlaf. 10^h steht auf.

4. III. 6600; 10^h 2′ 0,15 Eukodal; legt sich bald nieder, 10^h 15′ leichter Schlaf. 10^h 45′ steht wieder auf.

[1]) Die zu diesem Versuche gebrauchte Menge Eukodal ist mir von der Chem. Fabrik E. Merck freundlichst überlassen worden.

5. III. 6100; 9^h 27′ 0,2 Eukodal subcutan. 9^h 30′ Müdigkeit, liegt auf der Seite, Augen stets offen; springt bei dem leisesten Geräusch auf; 10^h 10′ sitzt. — Bis 11^h starke Unruhe.

6. III. 6700; Injektion mißglückt wegen Unruhe des Tieres.

7. und 8. keine Injektion. 9. III. 6400; 9^h 25′ 0,2 subcutan. 9^h 27′ Schwäche hinten, legt sich nieder, Müdigkeit, kein Schlaf.

10. III. 5800; 9^h 30′ 0,2 subcutan. 9^h 32′ Schwäche und Müdigkeit; diese dauern bis gegen 11^h 30′; kein Schlaf.

11. III. 6400; 9^h 0,2 subcutan, Müdigkeit, aber viel weniger als am 10.

12. III. 6200; 9^h 8′ 0,25 subcutan; Schwäche, Müdigkeit, kein Schlaf.

13. III. 5800; 9^h 25′ 0,3 subcutan; nach 1 Min. Schwäche hinten, Müdigkeit, kein Schlaf.

15. III. 6200; 9^h 15′ 0,3; Schwäche, Müdigkeit, sonst nichts.

16. III. 6300; 9^h 20′ 0,3 subcutan; Müdigkeit, Schwäche, starke Schreckhaftigkeit.

17. III. 5800; 9^h 30′ 0,3 subcutan, Müdigkeit, Schwäche, 9^h 50′ deutliche Reflexübererregbarkeit, 9^h 59′ plötzlicher Ausbruch von Krämpfen (nach Art der „Laufkrämpfe“), die ca. 1 Min. anhalten; dann sitzt das Tier auf. — Das sonst zutrauliche Tier beißt um sich. — Gegen Mittag normal.

18. III. 6000; 0,3 subcutan, Schwäche hinten, dann sehr bald Unruhe, die etwa 2 Stunden anhält; keine Krämpfe.

19. III. 5800; 9^h 25′ 0,3 subcutan. Sehr bald Unruhe; 9^h 35′ Zuckungen, die bald in einen starken Krampfanfall übergehen; Dauer ca. 1 Min. Dann noch Aufgeregtheit.

20. III. 5900; 9^h 0,1 Morphin subcutan. Nach 1 Min. Salivation, später Müdigkeit und Schwäche; kein Schlaf.

22. III. 5700; 9^h 25′ 0,2 Morphin subcutan. Bald darauf Müdigkeit, die immer mehr zunimmt. Gegen 11^h 30′ leichter Schlaf (leicht zu erwecken); 12^h Schlaf ziemlich fest.

14. IV. 7200; 9^h 32′ 0,1 Eudokal subcutan; 9^h 35′ Schwäche der hinteren Extremitäten; Defäkation; 9^h 40′ leichter Schlaf; 10^h 15′ sehr unruhig, schläft aber bald wieder ein. — Der schlafsüchtige Zustand dauert bis gegen 12^h.

Zu diesem Versuche ist folgendes zu bemerken. Die Anfangsdosis betrug etwa 7 mg pro kg Hund; Vehres gibt, wie erwähnt, an schon bei $^1/_3$—$^1/_2$ mg pro kg Hund Betäubungssymptome und nach 8 mg neben schwach lähmender Wirkung hauptsächlich Erregungserscheinungen (Unruhe, z. T. Krämpfe) gesehen zu haben In meinem Versuche war von dem letzteren nichts vorhanden, sondern nur ein relativ leichter Betäubungszustand; allerdings war das Tier, wie der nach 2 Tagen angestellte Versuch mit der gleichen Morphinmenge zeigte, gegen eine narkotische

Wirkung ziemlich refraktär. Jedenfalls aber hat hier beim Hunde, im Gegensatz zum Kaninchen, Eukodal das Großhirn nicht stärker als Morphin beeinflußt. — An den nächsten Tagen bekam das Tier die doppelte Menge, etwa 14 mg Eukodal pro kg, eine Dosis, die nach Vehres schon schwer toxisch ist; wie aus dem Protokoll ersichtlich, war aber kaum an einzelnen Tagen eine gewisse Unruhe und Schreckhaftigkeit zu sehen, jederzeit überwiegen die Symptome der Betäubung. — Auch bei den letzten Versuchen, in denen schon die nach Vehres eben tödliche Dosis von etwa 5 cg pro kg gegeben wurde, sah ich in den ersten zwei Tagen nur Müdigkeit, erst am dritten zeigte das Tier eine Übererregbarkeit und am vierten kam es zum Ausbruch von Krämpfen; am fünften war wieder nur Schwäche zu sehen, am sechsten traten dagegen wieder sehr starke Krämpfe auf, so daß eine Steigerung der Dosis aussichtslos erschien und der Versuch abgebrochen wurde.

Aus dem Verlauf ist zu erkennen, daß der Hund sich an die, von vornherein relativ schwache, sedative Wirkung des Eukodals ziemlich schnell gewöhnt, während die bei den kleinen Dosen nicht erkennbare erregende Komponente trotz vielfacher Wiederholung der Injektion bei der großen Dosis ungeschwächt zum Vorschein kommt. — Das Eukodal verhält sich also bei Hunden im wesentlichen ebenso wie das Kodein.

Im unmittelbaren Anschluß an die Eukodalinjektionen habe ich die Wirkung von Morphin auf dasselbe Tier untersucht; 0,1 war fast wirkungslos, 0,2 verursachte leichten Schlaf. — Wenn demnach auch die Morphinwirkung sichtlich abgeschwächt war, so war doch eine Wirkung vorhanden, während Eukodal unwirksam geworden war. — Die Spezifität der Gewöhnung ist also auch hier zu sehen[1]).

Wie der letzte Versuchstag zeigt, war die Gewöhnung an Eukodal nach einem freien Zwischenraume von etwa 25 Tagen vollständig verschwunden; das Tier reagierte auf Eukodal wie zu Anfang[2]).

[1]) J. Biberfeld, Über die Spezifität der Morphingewöhnung. Diese Zeitschr. 77, 283.

[2]) Außer dem oben Besprochenen ist noch anzuführen, daß ich ebenso wie Vehres beim Hunde stets reichliche Salivation nach der Eukodalinjektion gesehen habe; Gewöhnung trat auch hieran nicht ein. — Erbrechen trat weder bei diesem, noch bei einem anderen Hunde ein.

Ich habe auch veısucht, ob sich etwas über das Schicksal des Eukodals im Hundeorganismus feststellen lasse; zu diesem Zwecke habe ich die Harne verschiedener Versuchstage auf dem Wasserbade bei saurer Reaktion zur Sirupskonsistenz eingeengt, dreimal mit heißem Alkohol extrahiert, die Alkoholauszüge vereinigt, den Alkohol abdestilliert, den Rückstand mit salzsäurehaltigem Wasser extrahiert, filtriert, Filtrat mit Ammoniak alkalisch gemacht, mit alkoholhaltigem Chloroform (9 : 1) mehrfach ausgeschüttelt und das Chloroform in flachen Schälchen verdunsten lassen. — Wenn nun auch nicht zu erwarten war, etwa vorhandenes Eukodal auf diesem Wege quantitativ aus dem Harne zu erhalten, so war doch mindestens eine Isolierung qualitativ (chemisch oder pharmakologisch) bestimmbarer Mengen zu erhoffen; aus 5 ccm einer 5 proz. wässerigen Lösung habe ich auf gleichem Wege einen Rückstand von 0,17 g erhalten. — Der auf diese Weise behandelte Harn des ersten Injektionstages ergab keinen Rückstand; aus dem des fünften Tages (28. II.) hinterblieben einige weißliche Krystalle, die sich aber bei der Prüfung am Kaninchen als ohne Wirkung auf die Atmung erwiesen (wahrscheinlich Harnstoff).

II.

Vom Parakodin[1]) habe ich an Kaninchen ebenfalls hauptsächlich die Wirkung auf die Atmung untersucht; es hält hierin keinen Vergleich mit Morphin oder gar Eukodal aus, wirkt aber deutlich stärker als Kodein, wie die Abb. 7 und 8 zeigen; 0,045 Paracod. bitartaric. setzte die Erregbarkeit des Atemzentrums viel mehr herab als 0,06 Codein. phosphor. und die Wirkung des ersteren hielt auch viel länger an. — Daß auch bei der in diesem Versuche angewendeten relativ kleinen Dosis Kodein die ihm eigene erregende Wirkung (auch auf die Atmung) besitzt, zeigt der geringe Ausschlag, den die sonst unbedingt stark wirksame Menge von 0,005 nachher injizierten Eukodals gibt.

Am isolierten Kaninchendarm erwies sich auch Parakodein als stark lähmend (Abb. 9).

Ein Versuch, einen Hund an Parakodin zu gewöhnen, verlief folgendermaßen:

[1]) Von der chem. Fabrik Knoll & Co., Ludwigshafen ist mir die für meine Versuche nötige Menge freundlichst zur Verfügung gestellt worden.

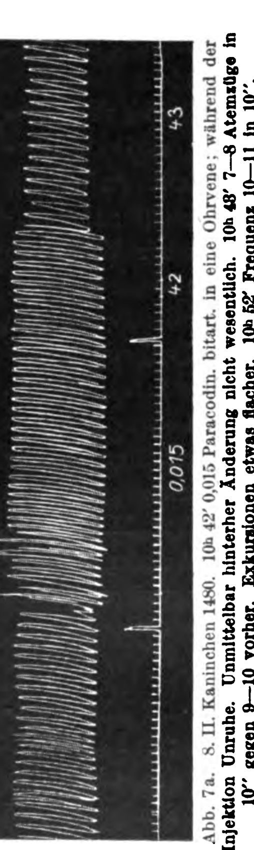


Abb. 7a. 8. II. Kaninchen 1480. 10^{h} 42′ 0,015 Paracodin. bitart. in eine Ohrvene; während der **Injektion Unruhe. Unmittelbar hinterher Änderung nicht wesentlich. 10^{h} 43′ 7—8 Atemzüge in 10″ gegen 9—10 vorher. Exkursionen etwas flacher. 10^{h} 52′ Frequenz 10—11 in 10″.**

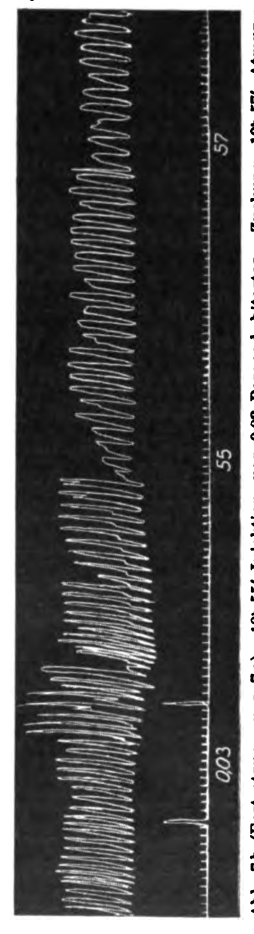


Abb. 7b (Fortsetzung von 7a). 10^{h} 55′ Injektion von 0,03 Paracod. bitartar.; Zuckung, 10^{h} 57′ Atmung flach, 5 in 10″. 11^{h} 22′ noch ebenso, 11^{h} 45′ Amplitude etwas größer, sonst ebenso.

Abb. 7c (Fortsetzung von 7b). 12^{h} 20′ Atmung noch flach, 5—6 in 10″.

Abb. 8a. 9. II. Dasselbe Tier wie im Versuch vom 8. II. Gew. 1460. 3^{h} 52′ 0,03 Codein. phosph. in eine Ohrvene, während der Injektion Unruhe, Atmung ändert sich kaum. 3^{h} 57′ nochmals 0,03 intravenös. Darauf eine geringe Abflachung und Abnahme der Frequenz (von 8—9 auf ca. 7 in 10″).



Abb. 8b (Fortsetzung von 8a). 4h 10' die geringe Änderung der Atmung hat sich wieder ausgeglichen.

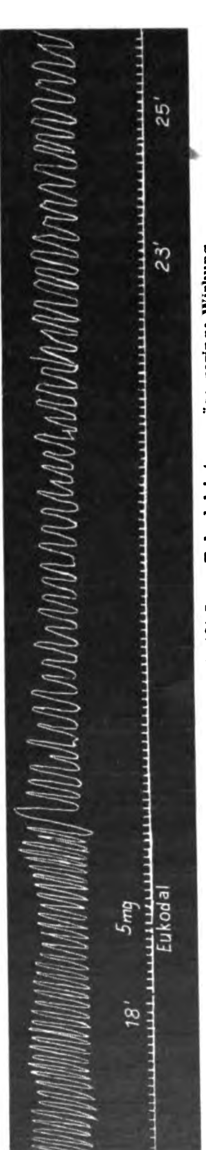


Abb. 8c (Fortsetzung von 8b). 4h 18' 5 mg Eukodal intravenös: geringe Wirkung.



Abb. 9. Kaninchendarm; 0,05 Paracod. bitartar. (zu 75 ccm Flüssigkeit) lähmt fast vollständig.

15. IV. Hund 7200; 12^h 0,15 subcutan; nach ganz kurzer Zeit Salivation, 12^h 10′ Müdigkeit, legt sich nieder, 12^h 15′ leichter Schlaf. Gegen 1^h sitzt er wieder.

16. IV. 6800; 11^h 0,15 subcutan; nach kurzer Zeit Müdigkeit, Schlaf (anscheinend etwas fester als am Tage vorher). 12^h steht wieder auf.

17. IV. 6700; 10^h30′ 0,15 subcutan, Müdigkeit, ganz leichter Schlaf; 11^h15′ steht.

19. IV. 6600; 11^h 0,15 subcutan. — 11^h 10′ sehr starke Salivation, nur geringe Müdigkeit.

20. IV. 6300; 0,15 subcutan, nur Müdigkeit.

21. IV. 6300; 0,25 subcutan; starke Unruhe, sonst nichts.

22. IV. 6200; 0,25 subcutan, Unruhe.

23. IV. 6300; 0,25 subcutan, Unruhe.

24. IV. 6100; 0,25, Unruhe.

26. IV. 6100; 0,35 subcutan, Unruhe, gegen 10^h anscheinend Halluzinationen.

27. IV. 6500; 0,4 subcutan, nur Unruhe.

28. IV. 6000; 10^h30′ 0,45 subcutan, gegen 11^h gesteigerte Reflexerregbarkeit, 12^h wieder normal.

29. IV. 5600; 11^h 0,45 subcutan. 11^h 30′ Reflexübererregbarkeit. 12^h spontane Zuckungen, Steifigkeit der Extremitäten, 12^h 5′ Krampfanfall mit starkem Trismus, 12^h 20′ wieder normal.

Das Tier hat sich also an die anfangs ziemlich starke sedative Wirkung schnell gewöhnt, die Empfindlichkeit gegen die exzitierende ist geblieben — eine vollkommene Analogie zum Kodein.

Zusammenfassung.

1. Eukodal lähmt die Atmung viel stärker als Morphin, ist aber weniger giftig als Heroin; die Allgemeinnarkose ist ebenfalls stärker, aber flüchtiger als nach Morphin.

2. Kaninchen gewöhnen sich nicht an Eukodal (Atmung und Großhirn); bei Hunden geht die sedative Wirkung durch häufige Wiederholung der Injektionen schnell verloren und es kommt dann die den größeren Dosen eigene exzitierende zum Vorschein.

3. Parakodin wirkt auf die Atmung stärker als Kodein, schwächer als Eukodal und Morphin; Hunde zeigen eine Gewöhnung an die sedative Komponente der Wirkung.

4. Eukodal und Parakodin lähmen den isolierten Kaninchendarm.

Die Bedeutung der Magensalzsäure.

Erwiderung auf die Note von J. Traube.[1])

Von

L. Michaelis.

(Eingegangen am 31. August 1920.)

Von keiner Seite wird dagegen Widerspruch erhoben werden, daß die Verdauung von festem Eiweiß von seinem physikalischen Zustand, von der Feinheit seiner Zerteilung und von seinem Quellungszustand, abhängt. Da nun der Quellungszustand von festem Eiweiß von der Acidität der Lösung abhängt, so lag die Frage nahe, ob die Notwendigkeit der freien HCl für die Pepsinwirkung nicht in ausreichender Weise dadurch ihre Erklärung findet, daß die Säure einfach das Eiweißkoagulum durch die Quellung für die Pepsinwirkung vorbereitet. J. Traube[2]) hat nun mit Recht darauf hingewiesen, daß diejenige Acidität, welche für einige der in den gewöhnlichen Nahrungsmitteln vorhandenen Eiweißstoffe das Quellungsoptimum darstellt, gleichzeitig das Optimum für die Pepsinverdauung ist. Daraus zieht J. Traube[1]) den Schluß, daß „ein Eiweißstoff im Magen um so leichter und schneller verdaut wird, je größer seine Quellung bei der vorhandenen Salzsäurekonzentration ist". Diese Behauptung dürfte für physiologisch vorkommende Bedingungen wohl im ganzen richtig sein. Sie ist jedoch, ohne weiteren Zusatz ausgesprochen, geeignet die Physiologen dazu zu verleiten, die zwar zweifellos vorhandene Rolle des Quellungszustandes gewaltig zu überschätzen, und, allgemein als Aussage über die Pepsinverdauung ausgesprochen, ist sie bisweilen geradezu unzutreffend. Ich habe gezeigt[3]), daß auch Sulfosalicylsäure das Pepsin zu aktivieren vermag, obwohl diese Säure die Eiweißkörper nicht zur Quellung, sondern zur Fällung bringt. Man vergegenwärtige sich: Serum- oder Eiereiweiß, welches bei neutraler, ja selbst schwach saurer Lösung (p_H etwa = 4) nicht nur verquollen, sondern sogar gelöst ist, wird von Pepsin nicht verdaut. Fällt man in dieser Lösung das Eiweiß durch Sulfosalicylsäure, so wird dieses gefällte, entquollene Eiweiß vom Pepsin verdaut. Ich habe ferner darauf hingewiesen, daß das von M. Jacoby eingeführte Ricinusglobulin, welches aus seiner klaren wässerigen Lösung durch HCl ausgefällt wird, vom Pepsin nur in diesem, durch HCl gefällten Zustand verdaut wird. Es gibt also Fälle, wo die Angreifbarkeit des Eiweiß durch Pepsin dem Quellungszustand geradezu entgegengesetzt ist. Freilich sind das keine im lebenden Organismus vorkommenden Fälle. Es wäre auch,

teleologisch betrachtet, eine unzweckmäßige Einrichtung, wenn dasjenige Agens (HCl), welches die Pepsinwirkung erst ermöglicht, gleichzeitig die angreifbare Oberfläche des Eiweiß stark verminderte. Und so finden sich solche Fälle bei der natürlichen Verdauung wohl auch kaum. Um so geeigneter sind sie, um zu demonstrieren, daß der Quellungszustand des Eiweißes keineswegs der einzige bestimmende Faktor für die Angreifbarkeit durch Pepsin ist, sondern daß die Quellung zur Not auch ungünstig sein darf, daß aber die Ansäuerung nicht entbehrt werden kann und eine Aktivierung bewirkt selbst unter Umständen, wo sie gleichzeitig die Quellung sogar herabsetzt. Die Ansäuerung ist die conditio sine qua non, die Quellung ist es nicht. Für das Maß der Ansäuerung ist aber maßgeblich die H-Ionenkonzentration; andere physiologisch vorkommende Ionenarten sind zwar nicht ganz belanglos, ihr Einfluß ist aber so klein, daß er als bloße „Korrektur" des H˙-Einflusses in Rechnung gezogen werden kann, wie der „Salzfehler" eines Indicators.

Es könnte müßig erscheinen, die Wirkungsbedingungen des Pepsins so zu zergliedern. Das ist aber für eine allgemeine Theorie der Fermentwirkung erforderlich. Es gibt fermentative Spaltungen, bei denen von verschiedenen Quellungszuständen des Substrats keine Rede sein kann, z. B. die fermentative Rohrzuckerhydrolyse. Für diese wurde nun von Sörensen und von mir gezeigt, daß sie in hohem Maße von den H-Ionen abhängt. Der Fall des Pepsins zeigt nun, daß diese Anschauung auch für fermentative Prozesse mit quellbarem Substrat zutrifft, und daß das Hinzukommen der Quellungserscheinungen wohl mit zu berücksichtigen ist, aber von jenem anderen Agens unter Umständen unabhängig ist und ihn nicht aufhebt.

Der Überschätzung der H˙-Ionen, die Herr J. Traube mir vorhält, kann ich mich nicht schuldig fühlen. Auch dürfte es nicht erforderlich sein, mir vorzuhalten, daß auch andere Ionen eine Wirkung haben; denn ich habe in einer ganzen Reihe von Arbeiten[4]) die Wirkung anderer Ionen experimentell und theoretisch behandelt. Es bleibt aber zu Recht bestehen, daß für viele physiologisch wichtigen Vorgänge von allen unter physiologischen Bedingungen vorkommenden Ionenarten die H˙- bzw. OH′-Ionen den weitaus größten Einfluß haben, und daß noch bis vor wenigen Jahren über die Messung und Bedeutung der H˙-Ionen die größte Unklarheit herrschte. Es ist bezeichnend, daß z. B. die umladende Wirkung der Lanthan-Ionen auf Blutkörperchen[5]) eher bekannt wurde als die der H-Ionen[6])! Ionen von starker Wirksamkeit in diesem Sinne waren vordem nur in Form der physiologisch nicht vorkommenden seltenen Erden und Schwermetalle bekannt, und es mußte erst nachträglich gezeigt werden, daß die ganz gewöhnlichen H-Ionen auch zu diesen gehören, ja die anderen oft noch übertreffen. Es sei auch daran erinnert, daß J. Traube selbst einen Zusammenhang der Alkalität mit einer sehr wichtigen Eigenschaft von (z. B. Chinin-) Lösungen, nämlich der Oberflächenspannung — in der hohen Bewertung dieser Eigenschaft werde ich bei Herrn Traube gewiß nicht auf Widerstand stoßen — gefunden hat. Nur hat sich Traube leider immer noch nicht entschlossen, bei diesen Untersuchungen eine Messung der H-Ionenkonzentration auszuführen.

Herr Traube will dem alten Begriff der Titrationsacidität wieder zu seinem Recht verhelfen. Das ist gar nicht nötig, dieses Recht ist niemals bestritten worden. Für diejenigen Fälle, in denen ich behauptet habe, daß die H'-Konzentration das Maßgebliche ist und nicht die Titrationsacidität, habe ich das auch experimentell bewiesen, indem ich zeigte, daß Puffer von gleicher H'-Konzentration, aber verschiedener Titrationsacidität, gleich wirken. Für solche Fälle, wo das nicht zutrifft, habe ich es auch nicht behauptet. Die theoretische Deutung, welche ich der Wirkung der H-Ionen gegeben habe, schließt nicht einmal andeutungsweise die Behauptung in sich ein, daß es nicht noch andere wirksame Agenzien als H-Ionen gäbe.

Literatur.

[1]) J. Traube, diese Zeitschr. **107**, 295 (1920). — [2]) J. Traube, Deutsche med. Wochenschr. 1919, Nr. 27. — [3]) L. Michaelis, Deutsche med. Wochenschr. 1920, Nr. 5. Genauer auf meine Veranlassung untersucht von A. Gyemant, diese Zeitschr. **105**, 155 (1920). — [4]) L. Michaelis, und P. Rona, diese Zeitschr. **94**, 225 (1919). — L. Michaelis, und A. v. Szént-Györgyi, diese Zeitschr. **103**, 178 (1920). — L. Michaelis, diese Zeitschr. **103**, 225 und **106** 83 (1920). — Siehe auch: L. Michaelis und H. Pechstein, diese Zeitschr. **47**, 250 (1912); L. Michaelis und H. Pechstein, diese Zeitschr. **59**, 77 (1914); L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. **97**, 85 (1919); L. Michaelis und A. Gyémant, diese Zeitschr. **109**, 165 (1920). — [5]) R. Höber, Arch. d. ges. Physiol. **101**, 627 (1904) und **102**, 196 (1904). — [6]) L. Michaelis und D. Takahashi diese Zeitschr. **29**, 439 (1910); E. Landsteiner, diese Zeitschr. **50**, 176 (1913); Kozawa, diese Zeitschr. **60**, 146 (1914).

Über das Vorkommen von Phosphaten im menschlichen Blutserum. XI.

Hyperphosphatämie und „Salzretention“ bei Morbus-Brightii.

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem chemisch-physiologischen Laboratorium des Allgem. Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 1. September 1920.)

Durch methodische und beschreibende Studien von J. Greenwald, die 1915 eingeleitet wurden, gelangte die Frage der Phosphatämie in Fluß. Ihrer Wichtigkeit entsprechend, wurde sie alsbald von Feigl (1915) aufgenommen. Die inzwischen erzielten Ergebnisse dieses Autors (1915) bis 1920) zeigen, in wie fruchtbarer Weise sich der Anstoß in Breite und Tiefe entwickeln ließ. Die methodischen Verhältnisse sind eingehend beforscht worden und das System der P-Verteilung im Blute steht heute in den Haupttatsachen gesichert vor uns. Es ist in früheren Mitteilungen des Verfassers gesagt worden, von welchem Werte auch die späteren Arbeiten Greenwalds auf diesem Gebiete sind, und daß Marriott sowie andere Forscher wichtige Seitenlinien der Aufgabe (methodisch), sowie beschreibende Erträge (sachlich) bereicherten. Inzwischen hat auch W. R. Bloor, dessen analytisches System für das Lipämiegebiet so reiche Möglichkeiten schuf, die wichtigen Probleme durch methodische und beschreibende Resultate wesentlich bereichert. Es darf auch in dem hier verfolgten Zusammenhange schon betont werden, daß Greenwalds analytisches Prinzip ein Wurf von prinzipieller Bedeutung geworden ist, wie die jüngste Literatur zeigt, mit der wir uns a. O. zu beschäftigen haben. Soweit sich die bisher erzielten Erträge beurteilen lassen, haben wir es mit Resultaten zu tun, die von Greenwald bis Bloor zwar auf verschiedenen Wegen

heranreiften, sich aber weitgehend untereinander stützen; ja man wird von prinzipieller Sicherstellung der erstrebten Ziele sprechen dürfen, wenn auch immer aufs neue im verwickelten, methodischen System Einzelfragen auftauchen, die auf weitere Abrundung, Präzisierung und restlose Abgleichung dringen.

Greenwald schuf derzeit den Begriff des säurelöslichen Phosphors im Gegensatz zum „unlöslichen". Es hat eine ideale Fraktionierung erreicht, die ihrerseits durch Feigl weiter systematisiert wurde. Greenwald sowie Feigl haben mit gutem Rechte sich angelegen sein lassen, den komplexen Begriff als solchen zu benutzen. Daß das mit anderen Erträgen, welche die Aufteilung ermöglicht hat, auch heute noch für manche Aufgaben in Einklang steht, darf betont werden.

Greenwalds sowie Feigls beschreibende Ergebnisse, die schon 1917 in genügender Breite vorlagen, geben nun Anstoß zu einer Verwertung auf einem praktisch eminent wichtigen Spezialgebiete.

Man fand, daß der säurelösliche P bei Nierenstörungen mehr oder minder erheblich die normale Breite zu überschreiten vermöge, wobei ein Zusammenhang mit den azotämischen Werten — durch Parallelität der Bewegungen einerseits, durch erzielte (relative) Höhen andererseits — sich nicht aufzeigen ließ. Vor allen darf, wie Feigl später betonte, dieser Ertrag nicht unterschätzt werden. Ihm ist vielmehr hoher Wert beizumessen, besonders seit sich Näheres über den Komplexbegriff des P gewinnen ließ. Feigl verfolgte den eingeschlagenen Weg alsbald und gelangte an Hand eines systematisch gesicherten, pathochemischen Materials großer Breite zunächst dahin, daß außer Brightischen Vorbedingungen auch andere (schwere) Schädigungen den säurelöslichen P in erhöhten Beträgen darbieten könnten. Er gelangte zu näherem Einblick (und zu vergleichender Kritik) erst mit Hilfe der Aufteilung unter Nutzbarmachung des Rest-P-Begriffes. Schwierigere Verhältnisse, die die Hauptfraktion in toto erhöht darboten, konnten unter Umständen erst durch die Gliederung näher gekennzeichnet werden. Immerhin blieb — als Ganzes — die Tatsache bestehen, daß der säurelösliche P seine entschiedensten Anstiege in der Nierenpathologie zu verzeichen hatte.

Andererseits gelangen keine Bemühungen, Azotämie und Phosphatämie pathochemischer Breiten (im Gebiete der Nierenschädigungen) durchsichtig auf gleiche Basis zu stellen. Erst eindringlichere Betrachtung des Materiales legte die Möglichkeit gewisser Verknüpfungen nahe. Sie entfernten sich jedoch von dem analytisch (und diagnostisch) einfachen Prinzip der Arbeit mit dem säurelöslichen P. War in derzeitigen und späteren Untersuchungen wenigstens die eine Aufgabe — Beschreibung pathochemischen Vorkommens — überhaupt in Umrissen gelöst, so mußte trotz der

verwickelten Bedingungen, welche für die Gesamtpathologie der P-Verteilung in Frage kamen, sicher an der bis zum gewissen Grade einfachen Tatsache — des Vorkommens gesteigerten säurelöslichen Phosphors bei Morbus Brightii — wieder angeknüpft werden. Auf die derzeitigen Ergebnisse und Folgerungen, sowie auf die Versuche, mit Kombinationen zu ertragreicheren Deutungen zu kommen, kann hier im einzelnen nicht eingegangen werden. Es genüge zu sagen, daß die damaligen Auffassungen. sowohl der Ergänzung wie der Revision, vor allem aber der Schematisierung und Übertragung auf einfachere, der Anwendung förderliche Gesichtspunkte fähig sind. Als wichtig wurde, mit Recht, angesehen, daß Rest-N und säurelöslicher P eine durchgehende Parallelität (s. o.) nicht zeigten, aber auch, daß in akuten Glomerulonephritiden der Orthophosphat-P (des säurelöslichen P) an erster Stelle stünde, während dies in sonstigen Bildern nicht so ausgeprägt sei. Als nicht aussichtsreich hat sich dagegen erwiesen, zwischen Chlorion und säurelöslichen P zu Parallelen zu gelangen.

Jedenfalls haben wir, wenn das Typische betont werden soll, eine wichtige Tatsache vor uns. Bekanntlich hat das Volhard-Fahrsche System des Morb. Brightii unter anderem die Bedeutung der „Salzfunktion" der Niere hervorgehoben[1]). Während es zutrifft, daß die N-Funktion durch relativ einfache Blutanalysen (RN) der Prüfung zugänglich ist (wennschon Feigl und Knack für diffizile Verhältnisse auch hier dynamischen Anordnungen mit Erfolg und mit Recht das Wort redeten), fällt das für die Salzfunktion fort. Man hat mit NaCl (Chlorion)-Analysen Erfolge kaum erzielt. Auch mir und meinen Mitarbeitern sind in 6jähriger Arbeit irgendwelche Erträge trotz eingehender Bemühungen nicht beschieden gewesen. Andererseits bedarf der Kochsalzversuch vermutlich einer Ergänzung, die aus uns bekannten Gründen auf blutchemischen Wegen verschlossen ist. Die Ödemkrankheit als Stadium der schweren Kriegsunterernährung („Hungerödem") gelangte in der Hand von Falta und Quittner indes zu blutchemischen Erträgen („Chloridödeme"). Auch an anderer Stelle hat man oder wenigstens will man (es lagen auch Berichte von Untersuchern vor, denen kein großer Wert hinsichtlich methodischer Strenge nachgesagt werden darf) Ähnliches gesehen haben, während wir selbst allzu häufig, jedenfalls im einzelnen Falle typisch, die Erscheinung nicht, die

[1]) Mehrfach gebrauchter, gekürzter Ausdruck für das Verhalten der kranken Niere hinsichtlich der Elimination der Salze, spez. des NaCl (als des technisch handlichsten Typs).



Tatsache des Vorkommens andererseits wohl, sahen. Ganz kürzlich hat nun (zwar nicht in gerader Beziehung zum Hungerödem) Magnus-Levy wiederum dargetan, daß man von Chlorion auf Natriumion als wichtiger chemischer Ödemkonstante übergehen solle, ein Ergebnis, das uns in Hinsicht auf die anorganischen Blutbestandteile noch eingehend beschäftigen wird. Wir hatten derzeit (Hungerödem) ein Verdrängen des K-Ions durch Na-Ion, oft sogar absolut, meist jedoch relativ, gesehen und stehen seither (1917) auf demselben Standpunkte wie der letztgenannte Autor.

Während mit dem anorganischen Chlor (Chlorion, praktisch NaCl) in Gestalt einfacher Blutanalysen auf dem Gebiete der Nierenpathologie nicht weiterzukommen ist (es wäre das Vorgehen durchaus wünschenswert und, wie bekannt, methodisch durchaus einfach, übersehbar und in kleinsten Maßstäben durchführbar), woran ja auch therapeutische und diätetische Maßnahmen Anteil haben, scheint es nach Feigl und Knack wohl durchaus angängig und befriedigend, den dynamischen Kochsalzversuch in Reihenordnung auf Serum zu übertragen.

Dabei gelangt man jedoch zu komplizierten, jedenfalls auch technisch nicht ganz einfachen, analytischen Aufgaben, die in der breiteren Praxis kaum genügende Verwendung finden können. Das Hauptgewicht ist auf Einfachheit in sicheren und nicht zu sehr gespannten methodischen Verhältnissen zulegen, wobei noch der Forderung einwandfreier Unterlagen betr. Norm usw. weitgehend zu genügen ist. Nach Ansicht und Erfahrungen des Verfassers trifft das für die Frage der Hyperphosphatämie, praktisch in Form des Begriffes vom säurelöslichen Phosphor, durchaus zu. Die Tatsache mehr oder minder erheblicher, zumeist beträchtlicher Anstiege (deren Ausschläge genügen) ist vollauf belegt. Die Konstanten nur sind auf der Basis des vorgeschlagenen Arbeitsganges durchaus zureichend (und weiterhin gestützt sogar durch Parallelen anderer methodischer Prinzipien) bearbeitet und bekannt (Feigl). Eine Auflösung des Komplexbegriffes (säurelöslicher P) zugunsten des Orthophosphats P ist nicht vonnöten, da für die einschlägigen pathologischen Sonderverhältnisse reiches, beschreibendes Material vorliegt.

Die Norm wird nach Feigl, dessen Ergebnisse in der einschlägigen Literatur bis zu Bloor (1919) gesichert dastehen, mit rund 4,0 mg P für 100 ccm Serum begrenzt, während alimentäre,

individuelle, tägliche Schwankungen seines Vorkommens u. a. eingehend beschrieben sind. Unter Hinweis auf die Tabelle VIII (A, B) und die Tabelle IX der 1. Mitteilung über Phosphate im Serum (1917) darf festgestellt werden, daß Werte zwischen 5,0 mg und 8,0 mg P bereits reichlich vorkommen und daß solche über, 10,0 mg P in guten Breiten auftreten. Wir haben solche gesehen, die 20,0 mg P hinter sich ließen, ohne daß irgend unklare diagnostische Verhältnisse hineinspielten. Die Hyperphosphatämie bei Morb. Brightii ist also eine verbreitete und im Gebiete der „Salzfunktion" zunächst alleinstehende Erscheinung, die bereits nach bisherigen Erträgen ein guter Indicator ist. Sie ist nach den seit 1915 gesammelten Ergebnissen eine bedeutungsvolle, inhaltlich gesicherte Anschauungsform für die Salzfunktion. Wir haben sie, was pathologisch wichtig ist, losgelöst von azotämischen Ausschlägen höheren Grades bei Nephrosen gesehen, auch bei Glomerulonephritiden und Kombinationsformen sowie Übergängen unter gleichen Begleiterscheinungen.

Naturgemäß zieht, wie früher gesagt, die Frage der Hyperphosphatämie, wenn deren Schwergewicht in anorganischer Form gesucht wird, andere nach sich. Ältere Arbeiten legten Gewicht auf Beziehungen zu Ca, K, Cl, (Denstedt und Rumpf, Erben, Freund und Obermeyer, v. Moraczeswki, Albu und Neuberg), denen man erst auf Grund neuer Normalien etwas abgewinnen wird. Eines mag an dieser Stelle als unseres Erachtens wichtig hervorgehoben werden: sehr verbreitet fand sich (besonders in hohen Graden von Hyperphosphatämie) gesteigerte Ammoniakämie (die seither meist nach der besten Methode, von Henriquez und Soerensen untersucht wurde[1]). Diese Tatsache darf als

[1]) Kürzlich haben Hahn und Kootz (diese Zeitschr. 105, 220. 1920) über die Methodik der Ammoniakanalyse Beiträge geliefert und dabei auch die Verhältnisse des Blutes bedacht. In Hinsicht auf andere Arbeiten ergiebig mit dieser Aufgabe beschäftigt, müssen wir unter voller Anerkennung dieser mühevollen und zum Teil dankenswerten Beiträge doch bedauern, daß die Autoren die exakte und sehr wichtige Arbeit der dänischen Autoren nicht zu ihrem Rechte kommen lassen, noch sich der seit 1916 (Folin) wichtig gewordenen „direkten" Neßlerisation, die auch 1919 erweitert wurde, bedienen. Auch das Urteil über das Fehlen einer Standardmethode für Blut kann zu falschen Auffassungen führen, um so mehr, als nach unseren Erfahrungen die neue Technik hinter der der dänischen Autoren weit zurückbleibt.

pathologisch interessant angesehen werden, weil sie unter Umständen einer Anschauung („Urämie als Säurevergiftung") förderlich werden kann, andererseits die vielseitigen Probleme der Bindung an Anionen und deren relative Verhältnisse mit zu beleuchten gestattet.

Zu den methodischen Fragen, die für die Anwendung auch in dieser Sache bedeutungsvoll sein werden, gehört in prinzipieller Hinsicht folgende. Man arbeitet mit dem Komplexbegriff des krystalloiden, säurelöslichen Phosphors und zielt auf anorganische Phosphate. In einer späteren methodischen Erörterung wird abzuwägen sein, welche Gründe für praktische Forderungen maßgebend sind, und welche Wege in Konkurrenz zum Greenwaldschen System treten können. Am besten fundiert ist technisch aus den beschreibenden Vorarbeiten noch jedenfalls dieses auf Enteiweißung und Extraktion mit einem zuverlässigen Mittel gestellte Vorgehen, welches nach Greenwald und anderen Autoren (s. später) breitere Bedeutung, ja fast prinzipiellen Wert für die Analyse anorganischer Stoffe des Blutes gewonnen hat. Vergleichsanalysen nach der Bloorschen bzw. Feiglschen Technik (1919) bzw. nach Marriott stehen noch aus, und die direkte Fällung im nativen Serum bedarf größerer Vorarbeit, ohne sicherer zu sein. Die Bestimmung, welche nephelometrisch nach dem Mo-Strychninverfahren auszuführen ist (weil sie sich an sehr kleine Mengen wendet, und daher breiter Anwendung nicht hinderlich sein wird) stellt sich als allseitig durchgearbeitetes (Kleinmann 1919) genau im einzelnen charakterisiertes Präzisionsverfahren dar, dessen Handhabung im Nephelometer von Schmidt und Haensch (Feigl und Kleinmann) geringere Schwierigkeiten macht, als manches anscheinend einfachere, geläufigere Verfahren. Ob eine präzise Colorimetrie großer Empfindlichkeit (Mo-Ferrocyankaliumreaktion, Kleinmann, 1919; Reichweite von 1,0 mg P_2O_5 bis 0,1 mg P_2O_5; 0,5% Fehler) unter Steigerung der Serummenge in der Analyse auf 5,0 ccm an deren Stelle treten kann, ist auch zu prüfen. Meines Erachtens hängt die Wahl dann von der Einstellung des Untersuchers gegenüber dem analytischen Prinzip, damit vom Instrument, ab. Da jedoch ohne Nephelometrie gerade die benachbarten Gebiete (Lipämiekomplex) analytisch weniger günstig zugänglich sind, sei dieser der Vorrang eingeräumt. Unsere eigenen Ergebnisse

können bei der Wichtigkeit der Sache nur im engen Zusammenhange mit klinischen Berichten gegeben werden.

Literatur.

Joh. Feigl, Phosphate I. Diese Zeitschr. 81, 380. 1917; II, 83, 81. 1917; III, 83, 218. 1917; IV, 84, 231. 1917; V, 86, 395. 1918; VI, 87, 237. 1918; VII, 92, 1. 1918; VIII, 94, 293. 1919; X, 102, 131. 1920. — Joh. Feigl, Über Ödeme. Diese Zeitschr. 85, 365. 1918. — H. Kleinmann, Diese Zeitschr. 99. 1919, 1. bis 6. H. — A. Magnus-Levy, Dtsch. med. Wochenschr. 46, 594. 1920. (Gegenäußerung zu Widals Schule.) — Joh. Feigl, Zentralbl. f. inn. Med. 1920, Nr. 2. — Fernere Literatur in obigen Arbeiten sowie in der nächsten Mitteilung.

Zur Kenntnis der Urease. Zugleich ein Beitrag zum Studium der Giftwirkungen.

Von

P. Rona und **P. György.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 15. Juni 1920.)

Die physikalisch-chemischen Methoden und die in den letzten Jahren angewandten Mikromethoden ermöglichen es, Wirkungen von Fermenten, die verschiedensten Fermentgruppen angehören, ohne Aufwand besonders zeitraubender Versuche mit großer Exaktheit festzustellen. Dies setzt uns auch in die Lage, Änderungen dieser Fermentwirkungen, wie sie unter optimalen Bedingungen beobachtet werden, unter dem Einfluß äußerer Faktoren genau zu studieren. Unter diesen kommen vor allem die „Gifte" in Betracht. Untersuchungen in dieser Richtung sind zunächst vom biologischen Standpunkt aus von Wichtigkeit, da die „Zellgifte" letzten Endes vielfach im wesentlichen „Fermentgifte" sind, so daß wir bei der Beobachtung der fermentativen Spaltung unter dem Einfluß des betreffenden Giftes manche Aufklärung über den feineren Mechanismus der Giftwirkung erhoffen dürfen[1]). Ferner ist Aussicht vorhanden — worauf bereits auch andere Autoren hingewiesen haben —, daß die genaue Dosierung der Gifte in Verbindung mit dem quantitativen Studium des Verlaufes der enzymatischen Spaltung zu gewissen quantitativen Beziehungen zwischen Ferment und Gift führen könnte[2]), die auch Anhaltspunkte für die Größenordnung der Träger der Fermentwirkung zu geben imstande wären. Geeignete Fermente würden wohl auch ein exaktes Maß für gewisse Giftwirkungen abgeben.

[1]) Vgl. hierzu besonders die Ausführungen von M. Jacoby, diese Zeitschr. 76, 275. 1916.

[2]) Vgl. hierzu O. Warburg, Sitzungsber. d. Heidelberger Akad. d. Wiss. Bd. 1. 1914.

Es liegt demnach ein großes Feld der Forschung offen, das selbstverständlich bisher auch nicht brach lag. Die Beobachtungen über die Wirkung der Antiseptica sind ja zum Teil nichts anderes als solche über „Giftwirkung" auf Fermente[1]), und überaus zahlreich sind auch die verstreuten gelegentlichen Angaben über Hemmung und Förderung der Fermentwirkung durch verschiedene Stoffe. Systematische Untersuchungen, von pharmakologischen Gesichtspunkten aus angestellt, sind jedoch nur spärlich. Hier wären vor allem Arbeiten von M. Jacoby[2]), O. Warburg[3]) Euler und Svanberg[4]) zu nennen. Ferner hat F. Flury die Wirkung einiger erst in den letzten Jahren näher bekannt gewordener Gifte auf Katalase geprüft[5]). Angeregt durch diese letzten Versuche stellten wir uns die Aufgabe, zunächst einige Untersuchungen über den Einfluß einer Reihe organischer Arsenverbindungen, deren Giftwirkung auf den Organismus in neuerer Zeit größere Beachtung gefunden hat, auf Urease aus Sojabohnen und auf Serumlipase anzustellen und dehnten dann unsere Untersuchungen auch auf andere Ferment- und Giftgruppen aus. In der vorliegenden Abhandlung sollen nur die zuerst erwähnten Versuche mehr orientierenden Charakters mitgeteilt werden.

1. Bevor wir an unsere eigentliche Aufgabe gingen, mußten wir die Bedingungen, die für die Wirkung der Urease maßgebend sind, einer Prüfung unterziehen, da nur bei genauer Kenntnis der „physiologischen" Einflüsse eine sichere Unterlage für die späteren Untersuchungen gegeben ist.

Die Urease wurde aus fein gemahlenen Sojabohnen nach der Vorschrift von Jacoby, später nach der von van Slyke-Cullen[6]) hergestellt. Nach der letzteren werden 100 g entfettetes Sojamehl mit der fünffachen Menge Wasser verrührt. Nach zweistündigem Stehen trennt man durch Zentrifugieren den Bodensatz von der Lösung. Aus letzterer wird die Urease durch Zufügen von Aceton gefällt, nach dem Absitzen des Niederschlages abfiltriert. Den Niederschlag trocknet man im Exsiccator. Zur Bereitung der Ureaselösung ließen wir vor jedem Versuch ein bestimmtes Quantum Ureasepulver (1—2 g auf 100 ccm Wasser) im destillierten Wasser aufquellen, erwärmten bis ca. 45° und ließen 1—2 Stunden stehen. Die Lösung kam filtriert zur Anwendung. Wenn nicht anders an-

---

[1]) Vgl. namentlich Th. Paul, G. Birstein, A. Reuß, diese Zeitschr. **29**, 202. 1910, vgl. auch E. Laqueur, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. **55**, 240 (1906).

[2]) l. c.

[3]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chemie **71**, 479; **76**, 331. Diese Zeitschr. **100**, 230.

[4]) H. v. Euler und O. Svanberg, Arch. för Kemi etc. **7**, 1. 1920. Fermentforschung **3**, 330. 1920.

[5]) Nicht veröffentlichte Versuche. Mündliche Mitteilung.

[6]) Journ. of Biol. Chem. **19**, 211. 1914.

gegeben, sind die Versuche bei Zimmertemperatur ausgeführt. Die einzelnen Proben wurden mit je 2 Tropfen Toluol versetzt.

Von grundlegender Bedeutung ist der Einfluß der H-Ionenkonzentration auf das Ausmaß der fermentativen Spaltung[1]). Dies zeigen folgende Versuche.

Tabelle I.

Nr.	Harnstofflösung	Harnstoff-N	1% Urease	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H colorimetrisch gemessen		N abgespalten	Dauer (bei 37°)	Umsatz
	ccm	mg	ccm		vorher	nachher	mg		%
1	15,0	52,92	5,0	20,0; 4 pr. 1 sek.	6,6	6,6	11,76	1h 30′	22,1
2	15,0	52,92	5,0	20,0; 4 pr. 1 sek.	6,6	6,6	11,60	1h 30′	22,0
3	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,8	7,3	29,68	1h 30′	56,0
4	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	—	29,28	1h 30′	55,1
5	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 32 sek.	8,3	8,3	16,24	1h 30′	30,7
6	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 32 sek.	—	—	17,15	1h 30′	32,5

Tabelle II.

Nr.	Harnstofflösung	Harnstoff-N	1% Urease	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H colorimetrisch gemessen		N abgespalten	Dauer (bei 37°)	Umsatz
	ccm	mg	ccm		vorher	nachher	mg		%
1	15,0	52,92	5,0	20,0; 3 pr. 1 sek.	6,6	6,8	14,0	2h 30′	26
2	15,0	52,92	5,0	20,0; 2 pr. 1 sek.	6,8	6,8	26,3	2h 30′	49
3	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,8	7,2	39,2	2h 30′	74
4	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 4 sek.	7,0	7,6	42,0	2h 30′	79
5	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,2	7,8	42,0	2h 30′	79

Tabelle III.

Nr.	Harnstofflösung	Harnstoff-N	1% Urease	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H colorimetrisch gemessen		N abgespalten	Dauer (bei 37°)	Umsatz
	ccm	mg	ccm		vorher	nachher	mg		%
1	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,6	7,3	42,0	3h	79
2	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 3 sek.	6,9	7,6	41,4	3h	78
3	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,1	8,0	33,6	3h	63
4	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	7,3	8,1	31,6	3h	59
5	15,0	52,92	5,0	20,0; 1 pr. 24 sek.	7,5	8,2	26,9	3h	50

[1]) Die in diese Richtung fallenden Versuche, an denen Herr Dr. v. Slabey beteiligt war, sind im Frühjahr 1914 ausgeführt worden. (Vgl. hierzu M. Jacoby, Diese Zeitschr. 68, 46. 1915.) Ungefähr zur selben Zeit und später haben van Slyke (vgl. u. a. D. D. van Slyke und Gl. E. Cullen, Journ. of Biol. Chem. 19, 141; van Slyke und Zacharias, Ebenda S. 181), dann Barendrecht (Koninkl. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam 21, 1126. 1919) sich mit dem Problem beschäftigt und unsere Kenntnis über die Urease sehr wesentlich gefördert. Vgl. auch H. E. Armstrong, M. S. Benjamin und E. Horton, Proc. Royal Soc. London 86, 328. 1913.

Tabelle IV.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H colorimetrisch gemessen vorher	nachher	N abgespalten mg	Dauer (bei 37°)	% Umsatz
1	20,0	82,88	5,0	10,0	20,0; 3 pr. 1 sek.	6,5	6,9	28,07	2h	33
2	20,0	82,88	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,6	7,1	65,67	2h	79
3	20,0	82,88	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 3 sek.	6,8	7,4	58,52	2h	70
4	20,0	82,88	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,2	7,6	45,43	2h	54
5	20,0	82,88	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 32 sek.	8,1	8,3	26,95	2h	32

Tabelle V.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H vorher color.	p_H nachher color.	p_H nachher elektr.	N abgespalten mg	Dauer (bei 37°)	% Umsatz
1	20,0	60,25	5,0	10,0	20,0; 4 pr. 1 sek.	6,2	6,8	6,8	19,04	1h30′	31
2	20,0	60,25	5,0	10,0	20,0; 3 pr. 1 sek.	6,4	7,0	6,9	24,08	1h30′	39
3	20,0	60,25	5,0	10,0	20,0; 2 pr. 1 sek.	6,6	7,0	7,0	24,08	1h30′	39
4	20,0	60,25	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,8	7,2	7,3	30,24	1h30′	50
5	20,0	60,25	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 2 sek.	6,9	7,7	7,8	30,80	1h30′	51

Tabelle VI.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H vorher color.	p_H vorher elektr.	p_H nachher color.	p_H nachher elektr	N abgespalten mg	Dauer (bei 37°)	% Umsatz
1	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 2 pr. 1 sek.	6,6	6,4	7,3	7,3	43,12	2h	49
2	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,8	6,8	7,5	7,6	50,96	2h	59
3	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 3 sek.	7,0	—	8,1	8,4	44,24	2h	51
4	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,3	7,4	8,4	8,6	39,2	2h	45
5	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	7,6	—	8,4	8,6	34,16	2h	39

Tabelle VII.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H vorher color.	p_H vorher elektr.	p_H nachher color.	p_H nachher elektr.	N abgespalten mg	Dauer (bei 37°)	% Umsatz
1	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 2 pr. 1 sek.	6,4	6,4	6,7	—	30,03	2h	34
2	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,6	6,6	7,3	7,3	40,81	2h	47
3	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,6	6,6	7,3	7,3	38,97	2h	45
4	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 2 sek.	6,9	6,9	7,6	7,6	43,12	2h	49
5	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 2 sek.	6,9	6,9	7,6	7,6	42,50	2h	49
6	20,0	86,36	5,0	10,0	20,0; 1 pr. 3 sek.	7,1	—	7,7	7,8	40,23	2h	46

Aus diesen Versuchen ergibt es sich, daß die optimale H-Ionenkonzentration für die Urease bei etwa $p_H = 7,3—7,5$ liegt. Mit diesen übereinstimmende Werte haben bereits van Slyke, ferner Barendrecht angegeben. Abweichungen nach der saueren oder nach der alkalischen Seite vermindern das Ausmaß der fermentativen Spaltung bedeutend, woraus folgt, daß nur bei einer durch Puffer festgelegten H-Ionenkonzentration, soweit dies experimentell möglich ist, der Einfluß fremder Stoffe geprüft werden kann. Eine mehr oder weniger deutliche Verschiebung der Reaktion nach der alkalischen Seite war trotz Pufferung in den meisten unserer Versuche zu beobachten. Ohne Puffer ist diese Verschiebung natürlich ganz bedeutend (vgl. z. B. Tabelle IX, Ia) und vereitelt es, die Wirkung irgendeines anderweitigen Einflusses auf den Fermentvorgang sicher zu bewerten.

Es lag daher nahe, zu prüfen, ob der von M. Jacoby[1]) angegebene fördernde Einfluß des Serums nicht einfach auf eine Pufferwirkung desselben zurückzuführen ist, zumal die diesbezüglichen Versuche von Jacoby ohne Heranziehung von Reaktionsregulatoren angestellt worden sind.

In einer Reihe von Versuchen wurde die Spaltung einmal mit, einmal ohne Serum (benutzt wurde, wenn nicht anders angegeben, Menschenserum) bei optimaler Wasserstoffionenkonzentration beobachtet.

Tabelle VIII.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Serum ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	Destill. Wasser ccm	p_H colorimetrisch gemessen vorher	nachher	N abgespalten mg	Umsatz %
1a	20,0	79,64	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	11,0	6,8	7,3	67,77	85
1b	20,0	79,64	5,0	1,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	10,0	6,8	7,3	67,10	85
2a	20,0	79,64	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	12,0	6,8	7,3	65,46	82
2b	20,0	79,64	5,0	2,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	10,0	6,8	7,3	60,84	77
3a	20,0	79,06	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	11,0	6,8	7,1	33,88	43
3b	20,0	79,06	5,0	1,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	10,0	6,8	7,1	31,57	39
4a	20,0	79,06	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	12,0	6,8	7,1	38,50	48
4b	20,0	79,06	5,0	2,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	10,0	6,8	7,1	34,65	44

[1]) Vgl. M. Falk, diese Zeitschr. 59, 316. 1914. M. Jacoby und N. Umeda, Ebd. 68, 23. 1915.

Tabelle IX.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1% Urease ccm	Serum ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	Physiol. ClNa-Lsg. ccm	p_H colorimetrisch gemessen vorher	nachher	N abgespalten mg	% Umsatz
1a	20,0	74,98	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	1,0	6,8	7,1	28,56	38
1b	20,0	74,98	5,0	1,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	6,8	7,1	28,56	38
2a	20,0	74,98	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	1,5	6,8	7,1	29,12	39
2b	20,0	74,98	5,0	1,5	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	6,8	7,1	31,36	41
3a	20,0	74,98	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	2,0	6,8	7,1	38,08	50
3b	20,0	74,98	5,0	2,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	6,8	7,1	39,92	53
Ia	20,0	83,89	5,0	—	—	—	6,8	9,0	36,4	43
Ib	20,0	83,89	5,0	—	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	6,8	7,1	53,2	63

In allen diesen Versuchen zeigte sich keine Andeutung einer Serumwirkung. Die Unterschiede der Umsätze mit und ohne Serum überschreiten die Fehler der Methodik nirgends, ja in den meisten Fällen decken sich die beiden Werte vollkommen.

Man könnte meinen, daß Spaltungen bei einer ungünstigen H-Ionenkonzentration durch Serum eine fördernde Beeinflussung erfahren. Dies ist aber auch nicht der Fall, wie die folgenden Versuche zeigen.

Tabelle X.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1,5% Urease ccm	Serum ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H berechnet	Dauer (bei 37°)	N abgespalten mg	% Umsatz
1a	20,0	184	5,0	2,0	20,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,7	2h 30′	62,84	34,1
1b	20,0	184	5,0	—	22,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,7	2h 30′	61,20	33,2
2a	20,0	184	5,0	2,0	20,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,7	2h 30′	47,13	25,6
2b	20,0	184	5,0	—	22,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	—	2h 30′	48,77	26,4

Tabelle XI.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1,5% Urease ccm	Serum ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H berechnet	Dauer (bei 37°)	N abgespalten mg	% Umsatz
1a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,7	2h	58,25	31,5
1b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	—	2h	59,45	32,1
2a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,7	2h	45,68	24,7
2b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	—	2h	45,48	24,6
3a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	8,0	2h	40,90	22,2
3b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	—	2h	41,50	22,5

Tabelle XII.

Nr.	Harnstofflösung ccm	Harnstoff-N mg	1,5% Urease ccm	Serum ccm	Destill. Wasser ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar; ccm	p_H berechnet	Dauer (bei 37°)	N abgespalten mg	% Umsatz
1a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,7	2h	66,15	35,8
1b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 1 sek.	6,7	2h	64,73	35,1
2a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,7	2h	50,07	27,2
2b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 8 sek.	7,7	2h	49,15	26,7
3a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	8,0	2h	43,89	23,7
3b	20,0	184	5,0	—	12,0	20,0; 1 pr. 16 sek.	8,0	2h	43,29	23,4
4a	20,0	184	5,0	2,0	10,0	—	—	2h	41,29	22,3
4b	20,0	184	5,0	—	12,0	—	—	2h	41,29	22,3

Nach diesen Versuchen wäre also dem Serum, entgegen den Angaben von M. Jacoby, keine beschleunigende Wirkung zuzuschreiben. Daß diese Annahme jedoch trotz der eindeutigen Ergebnisse, die bisher mitgeteilt worden sind, nicht berechtigt ist, zeigen die Versuche, die nicht wie bis jetzt in kurz dauernder Spaltung den Umsatz feststellten, sondern die Urease 20—24 Stunden auf das Substrat einwirken ließen. Bei diesen Untersuchungen wurde in allen Fällen die Mikro-Kjeldahl-Methode angewandt, wodurch die Verarbeitung größerer Serien erst möglich wurde.

Im einzelnen wurden die Versuche folgendermaßen angesetzt. Die Zusammensetzung des Systems, in dem die Spaltung erfolgte, bestand aus 1 ccm einer 2proz. Harnstofflösung, 2 ccm eines $^m/_3$ Phosphatgemisches, 2 ccm Wasser (oder Serum) und 0,2—0,5 ccm Ureaselösung verschiedener Stärke. Die Konzentration des Gemisches an Phosphationen betrug also ca. $^m/_7$. Bei einer vollständigen Spaltung der gesamten Harnstoffmenge beträgt die Konzentration des Gemisches an NH_3 ca. $^m/_{1,5}$. Selbst in einer so hohen Pufferkonzentration konnte demnach bei einer weitgehenden Spaltung des Harnstoffes die Pufferwirkung aufgehoben und die Reaktion des Gemisches nach der alkalischen Seite verschoben werden, wie wir dies bereits in den oben mitgeteilten Makro-Versuchen gesehen haben. Nach Ablauf der festgesetzten Spaltungszeit werden 1 Tropfen Methylorange und 1—1,5 ccm 1 n-HCl dem Gemisch zugefügt und damit die Fermentwirkung unterbrochen. Die Bestimmung des abgespaltenen Ammoniaks erfolgte im Mikro-Kjeldahl-Apparat nach der Bangschen Vorschrift. Zum Verjagen des Ammoniaks wurde eine Lösung von 10% Na_2CO_3 + 10% NaCl verwendet und davon dem Gemisch so viel zugefügt, daß die (rote) Farbe desselben eben in Gelb umschlug. Im allgemeinen erfolgte die Ammoniakbestimmung in 1—2 ccm des Gemisches; vorgelegt wurde 10—20 ccm $^n/_{100}$-HCl. Die Rücktitration erfolgte jodometrisch. — Die Spaltung verlief bei 37°.

Sollten kurz- und langdauernde Versuche miteinander verglichen werden, so mußte man in beiden Reihen den gleichen oder einen sehr naheliegenden Umsatz erzielen. Arbeitet man unter optimalen Bedingungen, so ist natürlich bei den langdauernden Versuchen eine entsprechende kleinere Fermentmenge zur Spaltung zu benutzen. Folgende Versuche in Tabelle XIII geben die Verhältnisse bei verschiedener Versuchsdauer und verschiedenen Fermentmengen wieder.

Tabelle XIII.

Nr.	2% Harnstofflsg.	Phosphatgemisch $^1/_3$ molar	Destill. Wasser	Ureaselösung	p_H berechn.	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1 ccm	2 ccm 4 : 1	2 ccm	0,2 ccm 5%	6,1	3^h	2,97	31,8
2	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 5%	6,7	3^h	4,91	52,6
3	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 5%	7,3	3^h	4,84	52,0
4	1 ccm	2 ccm 1 : 8	2 ccm	0,2 ccm 5%	7,7	3^h	4,10	44,0
5	1 ccm	2 ccm 1 : 1	1,7 ccm	0,5 ccm 5%	6,7	3^h	9,20	99,0
6	1 ccm	2 ccm 1 : 4	1,7 ccm	0,5 ccm 5%	7,3	3^h	9,12	98,0
7	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 2,5%	6,7	3^h	2,86	30,7
8	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 2,5%	7,3	3^h	2,88	30,9
9	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 1%	6,7	3^h	0,64	6,9
10	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 1%	7,3	3^h	1,25	13,35
11	1 ccm	2 ccm 4 : 1	2 ccm	0,2 ccm 5%	6,1	20^h	8,58	91,5
12	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 5%	6,7	20^h	8,68	93,0
13	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 5%	7,3	20^h	9,18	98,4
14	1 ccm	2 ccm 1 : 8	2 ccm	0,2 ccm 5%	7,7	20^h	9,05	96,9
15	1 ccm	2 ccm 1 : 16	2 ccm	0,2 ccm 5%	8,0	20^h	8,21	87,95
16	1 ccm	2 ccm 1 : 1	1,7 ccm	0,5 ccm 5%	6,7	20^h	9,28	99,5
17	1 ccm	2 ccm 1 : 4	1,7 ccm	0,5 ccm 5%	7,3	20^h	9,05	96,9
18	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 2,5%	6,7	20^h	8,56	96,7
19	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 2,5%	7,3	20^h	6,04	64,7
20	1 ccm	2 ccm 1 : 1	2 ccm	0,2 ccm 1%	6,7	20^h	1,91	20,5
21	1 ccm	2 ccm 1 : 4	2 ccm	0,2 ccm 1%	7,3	20^h	1,82	19,65

Während 0,2 ccm 5 proz. Ureaselösung bei den gegebenen Versuchsbedingungen innerhalb 3 Stunden einen Umsatz von ca. 50% bewirkt hat. war der Umsatz bei derselben Fermentmenge innerhalb 20 Stunden fast vollständig. — 0,2 ccm 1 proz. Ureaselösung erzielte im Optimum innerhalb 3 Stunden bloß 13% Umsatz, in 20 Stunden schon 20%. — Wir verwendeten auf Grund der gewonnenen Anhaltspunkte in unseren Versuchsreihen, in denen kurz- und langdauernde Spaltungen verglichen werden sollten, 0,2 ccm 5 proz. Ureaselösung bei den kurz-, 0,3 ccm 1,25 proz. Ureaselösung bei den langdauernden Versuchen.

Die Versuche sind in den Tabellen XIV und XV wiedergegeben. In dieser Versuchsreihe kamen außer Menschenserum noch Sera von Kaninchen, Meerschweinchen und von Hammel zur Anwendung.

Tabelle XIV.

Nr.	2% Harnstofflsg.	Phosphatgemisch $^1/_3$ mol; 1:2	Destill. Wasser	Serum	5% Urease	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Kaninchen	0,2 ccm	5,60	59,6
2	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 „ „	0,2 ccm	5,57	59,45
3	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Meerschwein.	0,2 ccm	5,73	61,65
4	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 ccm „	0,2 ccm	5,70	61,5
5	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Hammel	0,2 ccm	5,38	57,75
6	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 „ „	0,2 ccm	5,72	61,6
7	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Menschen-S.	0,2 ccm	5,40	58,15
8	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 ccm „	0,2 ccm	5,68	61,1
9	1 ccm	2 ccm	2,0	—	0,2 ccm	5,55	59,3

Versuchsdauer: 3 Stunden. p_H berechnet = 7,00.

Tabelle XV.

Nr.	2% Harnstofflsg.	Phosphatgemisch $^1/_3$ mol; 1:2	Wasser ccm	Serum	1,25% Urease	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Kaninchen	0,3 ccm	8,55	91,8
2	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 „ „	0,3 ccm	8,58	92,1
3	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Meerschwein.	0,3 ccm	8,18	87,7
4	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 „ „	0,3 ccm	8,33	89,3
5	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Hammel-S.	0,3 ccm	8,46	90,8
6	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 „ „	0,3 ccm	8,38	89,75
7	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm Menschen-S.	0,3 ccm	9,31	100,0
8	1 ccm	2 ccm	1,8	0,2 ccm „	0,3 ccm	7,25	77,8
9	1 ccm	2 ccm	2,0	—	0,3 ccm	4,76	50,8

Versuchsdauer: 20 Stunden. p_H berechnet = 7,00.

Aus diesen Versuchsreihen ist zu ersehen, daß, während bei den kurzdauernden eine Wirkung des Serumzusatzes nicht festzustellen ist, bei den langdauernden in allen Fällen eine sehr starke Beschleunigung der spaltenden Wirkung der Urease stattfand. Es sei noch darauf hingewiesen, daß in beiden Reihen in den Kontrollversuchen ohne Serum der gleiche Umsatz erzielt wurde.

In diesen Versuchen war einmal eine hohe, einmal eine niedrige Fermentkonzentration der Serumwirkung ausgesetzt.

Damit trotz etwas größerer Fermentmengen die langdauernden Versuche zu einem nicht zu weitgehenden Umsatz führten, wodurch der Nachweis einer fördernden Wirkung unmöglich geworden wäre, sind folgende Versuche bei ungünstigen H-Ionenkonzentrationen p_H = 5,9—6,4 angestellt worden. Auch hier konnte eine fördernde Wirkung des Serums nachgewiesen werden.

Tabelle XVI.

Nr.	Harnstoff 2% ccm	Phosphatgemisch ¹/₃ mol ccm	Phosphatgemisch ¹/₃ mol prim. : sek.	p_H	Destill. Wasser ccm	Serum ccm	1% Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	0,2	20ʰ	0,76	8,2
2	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	0,2	20ʰ	2,72	29,2
3	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	0,2	20ʰ	1,87	20,0
4	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	0,2	20ʰ	2,95	31,6
5	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	0,2	20ʰ	3,38	36,2
6	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	0,2	20ʰ	4,14	44,4

Tabelle XVII.

Nr.	Harnstoff 2% ccm	Phosphatgemisch ¹/₃ mol ccm	Phosphatgemisch ¹/₃ mol prim. : sek.	p_H	Destill. Wasser ccm	Serum ccm	Urease %	Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1,0	2,0	6 : 1	5,9	1,5	0,5	—	—	20ʰ	—	—
2	1,0	2,0	6 : 1	5,9	2,0	—	1,0	0,2	20ʰ	0,67	7,15
3	1,0	2,0	6 : 1	5,9	1,5	0,5	1,0	0,2	20ʰ	2.00	21,4
4	1,0	2,0	4 : 1	6,1	2,0	—	1,0	0,2	20ʰ	0,99	10,6
5	1,0	2,0	4 : 1	6,1	1,5	0,5	1,0	0,2	20ʰ	2,34	25,1
6	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	1,0	0,2	20ʰ	1,12	12,0
7	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	1,0	0,2	20ʰ	3,74	40,0
8	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	1,5	0,2	20ʰ	1,42	15,2
9	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	1,5	0,2	20ʰ	3,53	38,0
10	1,0	2,0	6 : 1	5,9	2,0	—	2,0	0,2	20ʰ	0,74	7,8
11	1,0	2,0	6 : 1	5,9	1,5	0 5	2 0	0 2	20ʰ	2,24	24,0
12	1,0	2,0	4 : 1	6,1	2,0	—	2,0	0,2	20ʰ	1,01	10,8
13	1,0	2,0	4 : 1	6,1	1,5	0,5	2,0	0,2	20ʰ	2,71	29,0
14	1,0	2,0	2 : 1	6,4	2,0	—	2,0	0,2	20ʰ	2,75	29,5
15	1,0	2,0	2 : 1	6,4	1,5	0,5	2,0	0,2	20ʰ	3,79	40.5

Nur in langdauernden Versuchen ist demnach der begünstigende Einfluß des Serums vorhanden. Eine Erklärung hierfür zu geben, ist schwer. Eine Pufferwirkung des Serums kommt nicht in Betracht; waren doch die starken Phosphatgemische kaum ausreichend, die Reaktion aufrechtzuerhalten. In der Tat zeigt der Versuch (Tabelle XII 4a u. b) einmal ohne jeden Puffer, dann mit Serum denselben (gegen den bei optimaler Reaktion schlechten) Umsatz. Auch der Gedanke, daß das Serum selbst eine schwache spaltende Wirkung auf Harnstoff ausübt, die erst bei langdauernden Versuchen in Erscheinung tritt, muß fallengelassen werden, da das Serum, wie dies bereits M. Jacoby gezeigt hat, eine solche Fähigkeit nicht hat. Dies zeigt die folgende Tabelle, die außerdem noch einige, aus den Angaben leicht verständliche Kontrollversuche enthält. Dauer der Versuche 19 Stunden.

[1]) Vgl. R. Neumann, diese Zeitschr. 69, 134. 1915.

Tabelle XVIII.

Nr.	2% Harnstofflsg. ccm	Phosphat $^{1}/_{3}$ mol; 1:2 ccm	Destill. Wasser ccm	Zusatz Art	Zusatz ccm	2% Urease ccm	Umsatz mg N	Umsatz %
1	1	2	2	—	—	0,2	6,06	65
2	1	2	1,5	Serum	0,5	0,2	7,98	85
3	1	2	1,7	Serum	0,5	—	0	—
4	—	2	2,5	Serum	0,5	0,2	0	—
5	—	2	2,7	Serum	0,5	—	0	—
6	—	2	3,0	—	—	0,2	0	—
7	1	2	2,2	—	—	—	0	—
8	1	—	4,2	—	—	—	0	—
9	—	—	4,7	Serum	0,5	—	0	—
10	—	—	5	—	—	0,2	0	—
11*)	1	2	2	—	—	0,2	0,35	3,75
12*)	1	2	1,5	Serum	0,5	0,2	0,55	5,9

*) No. 11 und 12 mit Urease angesetzt, die $^{1}/_{4}$ Stunde auf 100° erhitzt wurde.

Man wird an die Serumeiweißkörper als Schutzkolloide denken müssen, die das Ferment durch Adsorptionsvorgänge oder durch chemische Bindung des gebildeten Ammoniaks vor diesem Spaltprodukt schützen. Für eine solche Vorstellung spräche auch, daß wir mit Gelatine häufig eine ähnliche fördernde Wirkung beobachten konnten; diese Befunde waren jedoch nicht stets reproduzierbar, so daß wir von deren Wiedergabe absehen. Eine Vorstellung, daß eine gewisse chemische Konfiguration, nach M. Jacoby die Aminogruppe, die Träger der fördernden Wirkung wären, ist zurückzuweisen, da es kaum verständlich wäre, warum diese nicht unabhängig von der Dauer der Spaltung ihren Einfluß entfalten sollten.

Tabelle XIX.

Nr.	2% Harnstofflsg.	Phosphatgemisch $^{1}/_{3}$ m; 1:2	Destill. Wasser ccm	Aminosäure	5% Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1 ccm	2 ccm	—	2,0 ccm 5% Glykokoll	0,2	3h	4,20	45,05
2	1 ccm	2 ccm	1,0	1,0 ccm 5% Glykokoll	0,2	3h	4,92	52,75
3	1 ccm	2 ccm	—	2,0 ccm 1% Glykokoll	0,2	3h	4,25	45,10
4	1 ccm	2 ccm	1,0	1,0 ccm 1% Glykokoll	0,2	3h	4,27	45,75
5	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm 1% Glykokoll	0,2	3h	4,92	52,75
6	1 ccm	2 ccm	—	2,0 ccm 1% Alanin	0,2	3h	4,33	46,25
7	1 ccm	2 ccm	1,0	1,0 ccm 1% Alanin	0,2	3h	4,09	43,85
8	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm 1% Alanin	0,2	3h	4,48	48,66
9	1 ccm	2 ccm	—	2,0 ccm 0,2% Tyrosin	0,2	3h	4,96	53,24
10	1 ccm	2 ccm	1,0	1,0 ccm 0,2% Tyrosin	0,2	3h	4,37	46,54
11	1 ccm	2 ccm	—	2,0 ccm 1,0% Leucin	0,2	3h	4,20	45,05
12	1 ccm	2 ccm	1,0	1,0 ccm 1% Leucin	0,2	3h	4,58	49,14
13	1 ccm	2 ccm	1,5	0,5 ccm 1% Leucin	0,2	3h	4,58	49,14
14	1 ccm	2 ccm	2,0	—	0,2	3h	4,92	52,75

p_H (berechnet) = 7,00.

In Zusammenhang hiermit konnten wir auch mit Aminosäuren weder in kurz- noch in langdauernden Versuchen irgendeine Wirkung auf die Harnstoffspaltung finden. Dies zeigen folgende Tabellen (XIX—XXII):

Tabelle XX.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphat $^1/_3$ mol; 1:2 ccm	Destill. Wasser ccm	Aminosäure ccm	1,25% Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1,0	2,0	—	2,0 5% Glykokoll	0,3	20^h	7,92	85,0
2	1,0	2,0	1,0	1,0 5% Glykokoll	0,3	20^h	6,68	71,7
3	1,0	2,0	—	2,0 1% Glykokoll	0,3	20^h	7,08	76,02
4	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Glykokoll	0,3	20^h	7,96	85,55
5	1,0	2,0	1,5	0,5 1% Glykokoll	0,3	20^h	7,96	85,55
6	1,0	2,0	—	2,0 1% Alanin	0,3	20^h	7,45	80,0
7	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Alanin	0,3	20^h	8,33	89,6
8	1,0	2,0	1,5	0,5 1% Alanin	0,3	20^h	6,26	67,25
9	1,0	2,0	—	2,0 0,2% Tyrosin	0,3	20^h	6,63	71,2
10	1,0	2,0	1,0	1,0 0,2% Tyrosin	0,3	20^h	8,03	86,25
11	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Leucin	0,3	20^h	6,03	64,8
12	1,0	2,0	1,5	0,5 1% Leucin	0,3	20^h	8,24	88,4
13	1,0	2,0	2,0	— —	0,3	20^h	7,80	83,8

p_H (berechnet) = 7,00.

Tabelle XXI.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphat $^1/_3$ mol; 1:2 ccm	Destill. Wasser ccm	Aminosäure ccm	1% Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1,0	2,0	2,0	— —	0,2	19^h	1,36	14,5
2	1,0	2,0	1,0	1,0 5% Glykokoll	0,2	19^h	1,6	17,2
3	—	2,0	2,0	1,0 5% Glykokoll	0,2	19^h	—	—
4	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Alanin	0,2	19^h	1,4	15,0
5	—	2,0	2,0	1,0 1% Alanin	0,2	19^h	—	—
6	1,0	2,0	1,0	1,0 0,2% Tyrosin	0,2	19^h	1,4	15,0
7	—	2,0	2,0	1,0 0,2% Tyrosin	0,2	19^h	—	—
8	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Leucin	0,2	19^h	1,8	19,0
9	—	2,0	2,0	1,0 1% Leucin	0,2	19^h	—	—

p_H (berechnet) = 7,00.

Tabelle XXII.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphat $^1/_3$ mol; 1:2 ccm	Destill. Wasser ccm	Aminosäure ccm	1% Urease ccm	Versuchsdauer	Umsatz in mg N	Umsatz in %
1	1,0	2,0	2,0	—	0,2	19^h	4,19	45,0
2	1,0	2,0	1,0	1,0 5% Glykokoll	0,2	19^h	4,29	46,0
3	—	2,0	2,0	1,0 5% Glykokoll	0,2	19^h	0,81	8,7
4	1,0	2,0	1,0	1,0 1% Alanin	0,2	19^h	3,68	39,5
5	1,0	2,0	1,0	1,0 0,2% Tyrosin	0,2	19^h	3,51	37,7
6	—	2,0	2,0	1,0 0,2% Tyrosin	0,2	19^h	0,03	—
7	1,0	2,0	1,0	1,0% 1 Leucin	0,2	19^h	4,57	49,0
8	—	2,0	2,0	1,0 1% Leucin	0,2	19^h	0,17	1,8

p_H (berechnet) = 7,00.

Eine hemmende Wirkung von Kochsalz oder Wasser konnten wir bei unserer Versuchsanordnung weder in kurz- noch in langdauernden Versuchen beobachten. In den diesbezüglichen Versuchen von M. Jacoby und Umeda[1]) war die Fermentwirkung so schwach, daß der Umsatz in 19 Stunden nur 4—10% betrug; die Versuchsbedingungen waren daher für vergleichende Untersuchungen der Spaltungsgeschwindigkeit wenig günstig.

Die Versuche sind in folgenden Tabellen wiedergegeben:

Tabelle XXIII.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ m; 1:2; ccm	Destill. Wasser ccm	Physiol. NaCl-Lösung ccm	5% Urease ccm	Umsatz	
						mg N	%
1	1,0	2,0	—	2,0	0,2	5,47	58,7
2	1,0	2,0	1,0	1,0	0,2	5,58	59,9
3	1,0	2,0	1,5	0,5	0,2	5,64	60,45
4	1,0	2,0	2,0	—	0,2	5,52	59,3
5	1,0	2,0	5,0	—	0,2	5,75	61,7

Versuchsdauer: 3 Stunden. $p_H = 7,00$.

Tabelle XXIV.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphatgemisch $^1/_3$ m; 1:2; ccm	Destill. Wasser ccm	Physiol. NaCl-Lösung ccm	1,25% Urease ccm	Umsatz	
						mg N	%
1	1,0	2,0	—	2,0	0,3	4,75	50,1
2	1,0	2,0	1,0	1,0	0,3	4,82	51,65
3	1,0	2,0	2,0	—	0,3	4,73	50,08
4	1,0	2,0	3,0	—	0,3	5,13	55,05
5	1,0	2,0	5,0	—	0,3	5,19	55,7
6	1,0	2,0	7,0	—	0,3	5,11	55,0

Versuchsdauer: 20 Stunden. $p_H = 7,00$.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, daß, um gut vergleichbare Versuche anzustellen, man am besten einen Umsatz von 40—50% bei kurzer Versuchsdauer anstreben muß. Bei langdauernden Versuchen können Zusätze, wie Serum, die Spaltung in unübersichtlicher Weise beeinflussen.

2. Auf Grund der obigen Befunde dehnten wir bei unseren in folgendem mitgeteilten orientierenden Versuchen zum Studium der Giftwirkung die Fermentwirkung nicht über 3 Stunden aus und erzielten bei den Kontrollen einen Umsatz von 20—50%. Die Zusammensetzung dieser war die gleiche

[1]) Diese Zeitschr. 68, 24. 1915.

wie oben angegeben: 1 ccm 2proz. Harnstofflösung, 2 ccm $^1/_3$ m Phosphatgemisch, 2 ccm dest. Wasser, 0,2 ccm 1 proz. (filtrierte) Ureaselösung. In den Proben mit den Giften kam an Stelle des Wassers die entsprechende Giftlösung, ebenfalls 2 ccm. Das Abbrechen der Versuche und die Ammoniakbestimmung erfolgte in der oben angegebenen Weise[1]).

Als Gifte kamen organische Arsenverbindungen zur Verwendung[2]): Atoxyl, Methylarsinoxyd, Phenylarsinoxyd, Phenylarsinchlorid, Diphenylarsinoxyd, Diphenylarsinchlorid, ferner eine anorganische Arsenverbindung, die arsenige Säure. Mit Ausnahme des Atoxyls figuriert das Arsen in sämtlichen verwendeten Verbindungen in der 3wertigen Form, allein im Atoxyl erscheint es 5wertig. — Arsenige Säure, Atoxyl und Methylarsinoxyd wurden in Wasser gelöst, und wurden in Lösungen zu 1 ‰ verwendet. Da im Gesamtvolumen von 5,2 ccm 2 ccm dieser Giftlösungen sich befand, beträgt die Konzentration des Systems an den erwähnten Substanzen ca. 0,04%, also bei Atoxyl ca. 2, bei arseniger Säure und Methylarsinoxyd ca. 4 Millimol/Liter. Die übrigen verwendeten Arsenverbindungen sind in Wasser praktisch unlöslich. Wir erwärmten eine wässerige Aufschwemmung von Phenyl- und Diphenylarsinoxyd bis ca. 50°, filtrierten; die so gelöste Arsenmenge blieb noch unter der analytisch nachweisbaren Größenordnung des Arsenspiegels. In einigen Versuchen fügten wir nun zu der wässerigen Aufschwemmung des Phenyl- und Diphenylarsinoxydes bzw. -Chlorids $^1/_5$ Teil Alkohol, erwärmten ebenfalls bis ca. 50° und filtrierten dann; in anderen Versuchen bereiteten wir von diesen Verbindungen alkoholische Lösungen, indem wir 0,1 g in 20 ccm warmem absolutem Äthylalkohol lösten. Die so gewonnene alkoholische Lösung wurde mit Wasser auf 100 aufgefüllt. Hierdurch fiel ein sehr großer Teil der gelösten Stoffe, namentlich der Diphenylverbindung, zuerst kolloidal aus. Die Lösungen wurden filtriert, blieben aber namentlich bei Diphenylarsinoxyd mäßig opak. (In den Tabellen als „alkohol. Lösung" bezeichnet.)

---

[1]) Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf Urease vgl. auch Naosuke Onodera, diese Zeitschr. **9**, 544. 1915. Über Einwirkung von Aldehyden auf Urease vgl. M. Jacoby **85**, 358. 1918.

[2]) Diese Stoffe verdanke ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. F. Flury.

Um eine mögliche, wenn auch nicht wahrscheinliche Verschiebung der H-Ionenkonzentration durch die Arsenverbindungen zu entdecken, haben wir in einer Versuchsreihe (vgl. Tabelle XXV) die H-Ionenkonzentration mittels Konzentrationsketten zu Beginn des Versuches bestimmt. Eine Änderung der H-Ionenkonzentration konnte durch die zugefügten Arsenverbindungen nicht beobachtet werden. Im Falle des Atoxyls konnte die H-Ionenkonzentration elektrometrisch auch bei ständiger Durchleitung von Wasserstoff nicht festgestellt werden, da sich ein konstantes Potential nicht einstellte.

Tabelle XXV.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phosphatgemisch $^1/_8$ m; 1:4; ccm	Substanz ccm	Urease-lösung 1% ccm	p_H be-rech-net	p_H gefund. (elek-trom.)	Versuchs-dauer	Umsatz mg N	Umsatz %
1	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	0,2	7,3	7,36	3h	1,63	17,5
2	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	0,2	7,3	7,26	3h	0,45	4,83
3	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösg.)	0,2	7,3	7,36	3h	—	0
4	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (alkohol Lös.)	0,2	7,3	7,32	3h	—	0
5	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (wäss. Lösg.)	0,2	7,3	7,29	3h	1,08	11,66
6	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (alkoh. Lösg.)	0,2	7,3	7,34	3h	0,407	4,32
7	1,0	2,0	Arsenige Säure	0,2	7,3	7,27	3h	2,23	23,92
8	1,0	2,0	Atoxyl	0,2	7,3	—	3h	2,87	30,81
9	1,0	2,0	Methylarsinoxyd	0,2	7,3	7,32	3h	0,90	9,66
10	1,0	2,0	Alkohol 1 : 4	0,2	7,3	7,31	3h	2,05	22,11
11	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	0,2	7,3	7,30	3h	2,04	21,93
12	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	—	7,3	7,29	3h	—	0

Außer den Kontrollen mit reinem Wasser wurden auch solche mit 20 proz. Äthylalkohol angestellt, um Vergleiche mit den „alkoholischen Lösungen“ der Arsenverbindungen ausführen zu können.

Wie ersichtlich, beeinträchtigen fast sämtliche Arsenverbindungen die Harnstoffspaltung durch Urease und zwar verschieden stark. Während in den Kontrollen ein Umsatz von über 20% erzielt wurde, ist in den Proben mit Diphenylarsinchlorid die Urease-Wirkung vollständig gehemmt, und sie erreicht in den alkoholischen Lösungen von Diphenylarsinoxyd und Phenylarsinoxyd bloß 4%, in den wässerigen Lösungen dieser Stoffe mit den minimalen gelösten Mengen etwa 10%. Methylarsinoxyd

hemmte gleichfalls die Urease-Wirkung, während Zusatz von Atoxyl und von arseniger Säure wirkungslos verlief.

Ganz dieselben Resultate ergaben die folgenden zwei Versuchsreihen, die in den Tabellen XXVI und XXVII wiedergegeben sind.

Tabelle XXVI.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phospatgemisch $^1/_3$ m; 1:2; ccm	Substanz ccm	Urease-lösung 1% ccm	Versuchsdauer	Umsatz	
						mg N	%
1	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	0,3	3h	2,60	27,9
2	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	0,3	3h	0,98	10,6
3	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösung)	0,3	3h	1,16	12,3
4	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	0,3	3h	2,75	29,5
5	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (alkoh. Lösg.)	0,3	3h	0,93	10,25
6	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	0,3	3h	0,76	8,2
7	1,0	2,0	Arsenige Säure	0,3	3h	3,96	42,55
8	1,0	2,0	Atoxyl	0,3	3h	4,75	50,8
9	1,0	2,0	Alkohol 20%	0,3	3h	4,53	48,45
10	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	0,3	3h	4,66	50,3
11	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	0,3	3h	5,04	54,1

p_H (berechnet) = 7,00.

Tabelle XXVII.

Nr.	Harnstofflsg. 2%; ccm	Phospatgemisch $^1/_3$ m; 1:2; ccm	Substanz ccm	Urease-lösung 1% ccm	Versuchsdauer	Umsatz	
						mg N	%
1	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	0,3	4h	1,50	16,09
2	1,0	2,0	Phenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	0,3	4h	0,51	5,5
3	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösg.)	0,3	4h	0,59	6,4
4	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	0,3	4h	1,91	20,5
5	1,0	2,0	Diphenylarsinchlorid (alkoh. Lösg.)	0,3	4h	0,52	5,6
6	1,0	2,0	Diphenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	0,3	4h	0,36	3,85
7	1,0	2,0	Arsenige Säure	0,3	4h	2,53	27,0
8	1,0	2,0	Atoxyl	0,3	4h	3,47	37,2
9	1,0	2,0	Methylarsinoxyd	0,3	4h	1,31	14,05
10	1,0	2,0	Alkohol 20%	0,3	4h	3,15	33,8
11	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	0,3	4h	3,43	36,6
12	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	0,3	4h	3,37	36,3
13	1,0	2,0	Destilliertes Wasser	—	4h	—	0

p_H (berechnet) = 7,00.

Um den Einfluß der Giftkonzentration festzustellen, haben wir eine Reihe vorläufiger, orientierender Versuche mit verschiedenen Verdünnungen von Methylarsinoxyd angestellt. Es zeigte sich, daß bei der angewandten Versuchsanordnung die Hemmung noch stark ausgeprägt war bei 1 ccm der 1‰ Methylarsinlösung in 5,2 ccm Gesamtvolumen, d. i. bei ca. 1 Millimol/Liter der Substanz; weniger deutlich ist sie bei der nächstfolgenden Verdünnung von 0,5 Millimol, bei 0,25 Millimol ist sie nicht mehr nachweisbar. Bei 1 und 2 Millimol war, wenigstens nach den bisherigen Beobachtungen, ein Unterschied in der Wirkung nicht zu beobachten.

Tabelle XXVIII.

Nr.	Harnstofflösung 2% ccm	Phospatgemisch $^1/_3$ m; 1:2; ccm	Methylarsinoxyd 1‰ ccm	Ureaselösung 1% ccm	Destill. Wasser	Versuchsdauer	Umsatz	
							mg N	%
1	1,0	2,0	2,0	0,3	—	3^h	2,71	29,05
2	1,0	2,0	1,0	0,3	1,0	3^h	2,51	26,9
3	1,0	2,0	0,5	0,3	1,5	3^h	4,18	43,9
4	1,0	2,0	0,25	0,3	1,75	3^h	4,64	49,6
5	1,0	2,0	0,125	0,3	1,875	3^h	4,66	50,1
6	1,0	2,0	0,0625	0,3	1,94	3^h	4,89	52,3
7	1,0	2,0	—	0,3	2,4	3^h	4,90	52,5

p_H (berechnet) = 7,00.

3. Ein anderes, einer anderen Fermentgruppe angehörendes Ferment, die Esterase des Blutserums, läßt sich mit der Tropfmethode von Rona und Michaelis ebenfalls bequem genau in ihrer Wirkung verfolgen. Wir zogen daher auch dieses Ferment in den Kreis unserer Untersuchungen. Verwendet wurden Kaninchen- und Meerschweinchenserum 10fach verdünnt, entweder mit Wasser oder mit der entsprechenden Giftlösung. Als solche benutzten wir die oben erwähnten Arsenverbindungen. Die Lösungen blieben $^1/_2$ bis 1 Stunde mit dem Serum zusammen, dann erfolgte die Vermischung von 1 ccm dieser Verdünnung mit 50 ccm einer frisch hergestellten, gesättigten wässerigen Tributyrinlösung, die außerdem noch das zur optimalen Reaktion nötige Phosphatgemisch (1 : 7) enthielt. Die erste Tropfenzählung erfolgte sofort nach der Vermischung und wurde nach $^1/_4$, 1, 2, in einigen Fällen 3 Stunden wiederholt.

Wie in den Versuchen mit Urease, konnte auch bei Lipase eine starke Schädigung durch Arsenverbindungen festgestellt

werden. Im Gegensatz zu Urease wirkten aber Atoxyl und arsenige Säure stark hemmend auf die Lipase, während bei Methylarsinoxyd keine Wirkung nachzuweisen war. Die übrigen Verbindungen verhielten sich ähnlich wie in den Versuchen mit Urease; auch hier waren die „alkoholischen Lösungen" von Dimethylarsinoxyd und -chlorid viel wirksamer, als in der rein wässerigen.

Über interessante quantitative Beziehungen zwischen Atoxyl und Lipase wird weiter unten[1]) ausführlich berichtet werden.

Tabelle XXIX. Kaninchenserum-Lipase.

Nr.	Substanz	Tropfenzahl nach					Umsatz in %
		sofort	15′	1h	2h	3h	
1	Diphenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	136	136	135	132	125	51,8
2	Arsenige Säure	141	140	136	131	122	57,0
3	Atoxyl	143	141	140	139	136	17,8
4	Methylarsinoxyd	141	136	134	124	113	78,24
5	Alkohol 10%	139	136	133	120	112	76,48
6	Destilliertes Wasser	139	137	133	121	112	76,48

Wasserwert der Capillare: 99 Tropfen; Tributyrinwert: 144 Tropfen.

Tabelle XXX. Kaninchenserum-Lipase.

Nr.	Substanz	Tropfenzahl nach			Umsatz in %
		sofort	1h	2h	
1	Methylarsinoxyd (wäss. Lösung)	146	137	127	51,7
2	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösg.)	146	138	127	51,7
3	Diphenylarsinchlorid (alkoh. Lösg.)	146	134	126	52,3
4	Diphenylarsinoxyd (alkoh. Lösg.)	143	138	126	52,3
5	Methylarsinoxyd	144	133	118	67,7
6	Alkohol 10%	145	130	116	70,0
7	Destilliertes Wasser	146	130	116	70,0

Wasserwert der Kapillare: 99 Tropfen; Tributyrinwert: 147 Tropfen.

Tabelle XXXI. Menschenserum-Lipase.

Nr.	Substanz	Tropfenzahl nach				Umsatz in %
		sofort	15′	1h	2h	
1	Phenylarsinoxyd (alkoh. Lösg.)	132	127	125	125	22
2	Phenylarsinoxyd (wäss. Lösg.)	130	129	128	127	22
3	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösg.)	133	128	123	118	47
4	Diphenylarsinoxyd (wäss. Lösg.)	133	129	127	118	47
5	Arsenige Säure	133	128	128	127	22
6	Atoxyl	130	129	129	128	21,5
7	Destilliertes Wasser	129	123	120	116	50

Wasserwert der Capillare: 95 Tropfen; Tributyrinwert: 135 Tropfen.

[1]) Vgl. S. 166.

Tabelle XXXII. Menschenserum-Lipase.

Nr.	Substanz	Tropfenzahl nach					Umsatz in %
		sofort	15′	1h	2h	3h	
1	Phenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	140	136	134	130	124	53,5
2	Phenylarsinoxyd (alkoh. Lösung)	142	140	132	131	130	36,6
3	Diphenylarsinchlorid (wäss. Lösg.)	143	132	128	126	122	57,0
4	Diphenylarsinoxyd (wäss. Lösung)	142	138	128	126	115	69,0
5	Diphenylarsinchlorid (alkoh. Lösg.)	142	140	132	124	120	60,6
6	Destilliertes Wasser	140	137	128	120	111	76,5

Wasserwert der Capillare: 99 Tropfen; Tributyrinwert: 144 Tropfen.

Zusammenfassung.

1. Das Optimum der Sojabohnen-Urease wurde, in Übereinstimmung mit den Angaben anderer Forscher, bei $p_H = 7{,}3$-$7{,}5$ gefunden.

2. Der von M. Jacoby zuerst beschriebene fördernde Einfluß des Serums auf die Urease-Wirkung tritt nur bei langdauernden Versuchen auf.

3. Eine fördernde Wirkung von Aminosäuren, eine hemmende von Wasser und Kochsalz konnte nicht gefunden werden.

4. Die Wirkung einer Reihe organischer Arsenverbindungen auf Urease und Lipase wurde untersucht und auf die allgemeine Bedeutung der Fermente zum Studium der Giftwirkungen hingewiesen.

Beiträge zum Studium der Giftwirkungen.

Versuche über die Giftwirkung des Thiodiglykols und seiner Derivate an Sojabohnenurease.

Von

P. Rona und **H. Petow.**

(Aus dem Kaiser Wilhelm-Institut für physikalische Chemie und Elektrochemie, Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 1. September 1920.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

I.

Die Giftigkeit der Halogenderivate des Thiodiglykols ist zuerst von Viktor Meyer[1]) beschrieben worden. Auf seine Veranlassung angestellte Versuche ergaben, daß Thiodiglykol gar nicht oder doch nur wenig giftig ist, daß aber seine Chlorderivate um so giftiger sind, je mehr Chlor das Molekül enthält. Über den Symptomkomplex der Vergiftung mit diesen Stoffen ist in letzter Zeit eine überaus reiche Literatur entstanden, auf die hier nicht eingegangen werden soll. Heubner[2]) nennt die Erkrankungen, die diese Gifte verursachen „Musterbeispiele krankhafter Veränderungen, bei denen die pharmakologische Analyse der Giftwirkung zugleich der Formung, Entwicklung und Befestigung allgemein-pathologischer Begriffe dient." Die esterartigen Derivate des Thiodiglykols zerfallen in Wasser ziemlich schnell hydrolytisch unter Abspaltung von Säure. Es liegt daher nahe, ihre Giftwirkung wenigstens zum Teil auf die in den Zellen entstehende Säure zurückzuführen. Der exakten Prüfung dieser Annahme stellen sich jedoch mancherlei Schwierigkeiten entgegen. Man kann das Schicksal, das diese Stoffe in

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1888 und 1889.

[2]) Vgl. Naturwissenschaften 8, 247.

der Zelle erleiden, nicht so verfolgen wie im Reagensglase. Es ist daher im folgenden versucht worden, ihre Wirkung an einem übersichtlicheren System zu untersuchen, als es die lebende Zelle ist, an einem Ferment nämlich, das leicht zu handhaben, dessen Wirkungsgrad bequem und exakt festzustellen und das gegen Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration genügend empfindlich ist. Wir wählten nach diesen Gesichtspunkten die Sojabohnenurease. Ihr Wirkungsgrad ist recht genau festzustellen, indem man die Menge des aus Harnstoff entstandenen Ammoniaks bestimmt. Ihre Empfindlichkeit gegen Reaktionsänderungen ist groß. Das Reaktionsoptimum der Urease liegt zwischen p_H 7,3 und 7,6. Unterhalb p_H 7,2 und oberhalb p_H 7,7 fällt die Kurve steil ab [1]). Außerhalb des optimalen Gebietes genügen recht geringe Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration, um den Wirkungsgrad des Fermentes stark zu verkleinern. Unsere Versuche sind als Modellversuche gedacht. Auch aus anderen Gründen schien es von Bedeutung zu sein, die Wirkung dieser Gifte gerade auf ein Ferment zu untersuchen. Wir stellten uns vor, daß Stoffe, die in so geringen Mengen so große physiologische Wirkung entfalten, wie die Halogenderivate des Thiodiglykols, im Organismus chemische Verbindungen angreifen müssen, die für das Leben von ausschlaggebender Bedeutung sind, und zu deren Zerstörung geringste Quantitäten des Giftes genügen. Solche Verbindungen dürften die Fermente sein. Gifte, die elektiv gewisse Fermente ausschalten, müßten in der Tat in sehr geringen Mengen deletäre Wirkungen zeitigen. Zeigten sich die untersuchten Stoffe als Fermentgifte, so konnte man andererseits hoffen, auch über das Ferment etwas zu erfahren.

Wir untersuchten folgende Verbindungen:

Thiodiglykol (Th.)
$$S\begin{cases}CH_2-CH_2OH\\CH_2-CH_2OH\end{cases}$$

Dichlordiäthylsulfid (Dcls.)
$$S\begin{cases}CH_2-CH_2Cl\\CH_2-CH_2Cl\end{cases}$$

Tetrachlordiäthylsulfid (Tcls.)
$$S\begin{cases}CHCl-CH_2Cl\\CHCl-CH_2Cl\end{cases}$$

Thiodiglykolacetat (Tha.)
$$S\begin{cases}CH_2-CH_2(CH_3CO_2)\\CH_2-CH_2(CH_3CO_2)\end{cases}$$

Sulfon
$$SO_2\begin{cases}CH_2-CH_2Cl\\CH_2-CH_2Cl\end{cases}$$

Mit Ausnahme der letzten sind sie alle ölige Flüssigkeiten. Das Sulfon ist fest. Da diese Stoffe mit Ausnahme des Thio-

[1]) Vgl. hierzu S. 119, dann vor allem: Barendrecht l. c.

diglykols in Wasser wenig löslich sind, behandelten wir sie so, daß wir geringe Mengen in wenig 90 proz. Alkohol lösten. Bringt man die alkoholische Lösung in Wasser, so fallen die gelösten Körper zwar zum Teil auch aus, aber es resultiert doch eine feinere Verteilung, als wenn man sie direkt in Wasser gebracht hätte.

II.

Wie schon erwähnt, zerfallen die Ester des Thiodiglykols in Wasser unter Abspaltung von Säure. Wir suchten uns deshalb zunächst Klarheit darüber zu verschaffen wie schnell und in welcher Weise die Hydrolyse vor sich geht. Wir bedienten uns dazu der Methode der elektrolytischen Leitfähigkeitsmessung nach Kohlrausch, indem wir beobachteten, wie die Leitfähigkeit sich ändert, wenn man eine gewogene Menge des Giftes in Wasser löst. In dem Maße, in dem die untersuchten Stoffe Säurereste abspalten, muß die elektrische Leitfähigkeit der Lösung wachsen. Unter der berechtigten Voraussetzung, daß der Elektrizitätstransport so gut wie ausschließlich durch die entstandene Säure geleistet wird, kann man aus der Leitfähigkeit die jeweilig vorhandene Menge Säure berechnen.

Versuchsanordnung.

In einem Elektrodengefäß von bekannter Widerstandskapazität wird der Widerstand von Leitfähigkeitswasser (Kahlbaum) gemessen zu mehr als 50 000 Ohm. In eine abgemessene Menge dieses Wassers wird eine genau abgemessene Menge der alkoholischen Giftlösung gebracht und in demselben Elektrodengefäß bei Zimmertemperatur der Widerstand von 2 zu 2 Minuten gemessen. Wir gewannen so eine Anzahl von Werten. Nach 24 Stunden wurde noch einmal der Widerstand gemessen, um den Endwert zu erhalten.

1. Thiodiglykol (Th.), ca. 0,02 g Th., in 1 ccm 90 proz. Alkohol gelöst, werden zu 19 ccm Leitfähigkeitswasser in das Elektrodengefäß gegeben. Eine Trübung entsteht nicht. Temperatur rund 19°.

Der Widerstand ändert sich nicht. Er beträgt noch nach 48 Stunden ca. 50 000 Ohm.

2a. Dichlordiäthylsulfid (Dcls.), 0,1513 g Dcls. werden in 7 ccm 90 proz. Alkohol gelöst. 1 ccm davon wird in 100 ccm Wasser, dessen Widerstand zu über 50 000 Ohm gemessen ist, gegeben. Es entsteht eine milchige Trübung, die schnell vergeht. Temperatur ca. 19°. Konstante des Elektrodengefäßes 0,47. Die 100 ccm Wasser enthalten 0,0216 g Dcls. $= 13{,}6 \cdot 10^{-5}$ Grammoleküle.

Nach	4 Min.	ist	der	Widerstand	gesunken	auf	ca.	2900	Ohm
„	6 „	„	„	„	„	„	„	2200	„
„	8 „	„	„	„	„	„	„	1550	„
„	10 „	„	„	„	„	„	„		„
„	12 „	„	„	„	„	„	„	1100	„
„	14 „	„	„	„	„	„	„	990	„
„	16 „	„	„	„	„	„	„	900	„
„	18 „	„	„	„	„	„	„	825	„
„	20 „	„	„	„	„	„	„	785	„
„	22 „	„	„	„	„	„	„	745	„
„	24 „	„	„	„	„	„	„	715	„
„	28 „	„	„	„	„	„	„	675	„
„	24 Stdn.	„	„	„	„	„	„	515	„

Die Anfangswerte sind nicht sehr genau, da infolge der raschen Änderung des Widerstandes und der geringen Elektrolytkonzentration die Minima des Telephontones nicht sehr scharf waren. Die Widerstandswerte sind durchweg auf 5 abgerundet angegeben. Trägt man die gefundenen Werte in ein Koordinatensystem, dessen Abszisse die Zeit darstellt, während seine Ordinate die gemessenen Werte des Widerstandes in Ohm wiedergibt, so resultiert eine stetige Kurve von der Form einer Exponentialkurve (Abb. 1).

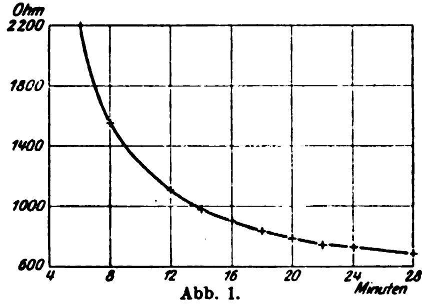


Abb. 1.

Bedeutet a die anfangs pro 1 ccm Lösungsmittel vorhandene Menge Dcls. $= 13{,}6 \cdot 10^{-7}$ Mol./1 ccm und x den jeweils zerfallenen Teil davon, so gilt unter der Voraussetzung eines monomolekularen Zerfalles $\log \frac{a}{a-x} = kt$ (wo k eine Konstante, t die Zeit in Minuten ist). In folgender Tabelle sind die zu den angegebenen Zeiten berechneten Mengen HCl (η), die jeweils zersetzten Mengen Dcls. (x), der jeweils noch vorhandene Teil Dcls. ($a-x$) und die Werte der Funktion $\log \frac{a}{a-x}$ zusammengestellt.

Minuten	$\eta \cdot 10^7$	$x \cdot 10^7$	$(a-x) \cdot 10^7$	$\log \frac{a}{a-x}$
4	4,23	2,13	11,47	0,073
6	5,62	2,81	10,79	0,100
8	7,95	3,97	9,63	0,150
12	11,24	5,62	7,98	0,232
14	12,50	6,25	7,35	0,267
16	13,75	6,87	6,73	0,306
18	15,00	7,50	6,11	0,348
20	15,76	7,88	5,72	0,376
22	16,60	8,30	5,30	0,409
24	17,30	8,65	4,95	0,439
28	18,33	9,16	4,44	0,486
24 Stunden	24,57	12,29	1,31	

Trägt man die Werte von $\log \frac{a}{a-x}$ in ein Koordinatensystem ein, dessen Abszisse die Zeit bedeutet, so liegen sie mit genügender Genauigkeit auf einer Geraden (Abb. 2).

Die Konstante der Reaktionsgleichung berechnet sich nach der Methode der kleinsten Fehlerquadratsumme zu 0,01867:

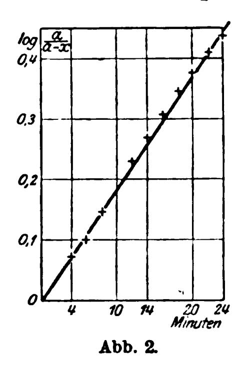


Abb. 2.

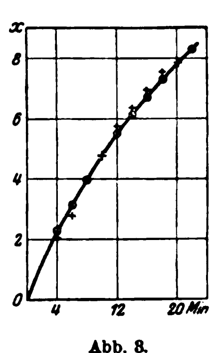


Abb. 3.

Berechnet man mit dieser Konstante die Werte für kt, so zeigt sich eine große Übereinstimmung mit den aus den gemessenen Widerständen auf dem oben angegebenen Wege berechneten Werten für $\log \frac{a}{a-x}$, wie folgende Tabelle und Kurve (Abb. 3) zeigt.

$\log \frac{a}{a-x}$	$k \cdot t$
0,073	0,073
0,100	0,112
0,150	0,149
—	—
0,232	0,224
0,267	0,261
0,306	0,299
0,348	0,336
0,376	0,373
0,409	0,410
0,439	0,448
—	—
0,486	0,523

Die Kreuze in der Kurve bedeuten die Werte für x, die aus $\log \frac{a}{a-x}$, berechnet wurden, die Kreise die Werte für x, die aus kt berechnet wurden.

Nach 24 Stunden waren von $13{,}6 \cdot 10^{-5}$ g Moleküle Dcls., die anfangs vorhanden waren, $12{,}29 \cdot 10^{-5}$ zersetzt, d. h. praktisch alles.

2 b) Ein Tropfen Dcls. wird in 1 ccm 90 proz. Alkohol gelöst und mit 100 ccm Wasser, das auf 2° abgekühlt ist, verdünnt und die Widerstände bei derselben Temperatur gemessen. Der Widerstand ändert sich unmeßbar langsam. Er beträgt nach 1 Stunde ca. 30000 Ohm.

2 c) 0,0225 Dcls. = $14{,}0 \cdot 10^{-5}$ g Moleküle werden in 1 ccm 90 proz. Alkohol gelöst und mit 100 ccm Wasser verdünnt, das auf 10° abgekühlt ist, und die Widerstände wiederum bei etwa 10° von 2 zu 2 Minuten gemessen.

Nach 6 Min. ist der Widerstand gesunken auf ca. 6200 Ohm
„ 8 „ „ „ „ „ „ „ 5150 „
„ 10 „ „ „ „ „ „ „ 4100 „
„ 12 „ „ „ „ „ „ „ 3550 „
„ 14 „ „ „ „ „ „ „ 3090 „
„ 16 „ „ „ „ „ „ „ 2670 „
„ 18 „ „ „ „ „ „ „ 2420 „

Nach 20	Min.	ist	der	Widerstand	gesunken	auf	ca.	2170 Ohm
„ 22	„	„	„	„	„	„	„	1975 „
„ 24	„	„	„	„	„	„	„	1800 „
„ 30	„	„	„	„	„	„	„	1525 „
„ 40	„	„	„	„	„	„	„	1160 „

Berechnet man aus diesen Werten wie oben die jeweils zersetzte Menge Gift (x) und bildet daraus die Funktion $y = \log \frac{a}{a - x}$, wo a die anfangs pro 1 ccm vorhandene Menge Dcls. bedeutet, und trägt diese Werte in ein Koordinatensystem, dessen Abszisse die Zeit angibt, so liegen die Werte wiederum auf einer Geraden. Folgende Tabelle faßt die Werte von x, $a - x$, $\log \frac{a}{a - x}$ zusammen.

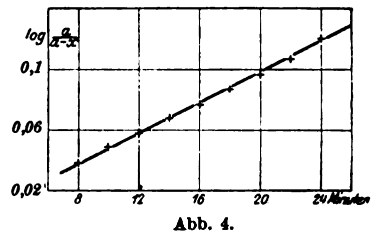


Abb. 4.

Die Konstante berechnet sich hierzu 0,0049. Die damit berechneten Werte von kt sind in der Tabelle unter der Rubrik 4 (kt) eingetragen. Die Übereinstimmung mit den gemessenen Werten ist vollkommen (Abb. 4).

Minuten	$x \cdot 10^7$	$\log \frac{a}{a - x}$	$k \cdot t$
8	1,20	0,039	0,039
10	1,51	0,049	0,049
12	1,74	0,057	0,059
14	2,00	0,066	0,069
16	2,32	0,078	0,078
18	2,56	0,087	0,088
20	2,85	0,098	0,098
22	3,13	0,109	0,108
24	3,44	0,121	0,118
30	4,06	0,147	0,147
40	5,33	0,206	0,196

Die Reaktionskonstante ändert sich also zwischen 10° und 20° im Verhältnis $\frac{0{,}0049}{0{,}0187} = \frac{1}{3{,}8}$.

2 d) 0,0228 g Dcls. werden in 1 ccm 90 proz. Alkohol gelöst und mit 50 ccm Wasser von 20° verdünnt.

Nach ca. 10 Minuten ist der Widerstand gesunken auf 505 Ohm. Nach 20 Minuten auf 340 Ohm. Zersetzt sind nach 10 Minuten also $12{,}25 \cdot 10^{-7}$ nach 20 Minuten $18{,}19 \cdot 10^{-7}$ Mol. pro 1 ccm.

Die Reaktionskonstante berechnet sich zu 0,0196, steht also in guter Übereinstimmung mit dem oben gefundenen Werte. Sie ist also unabhängig von der Wassermenge.

Dasselbe zeigt folgender Versuch:

2 e) 0,1538 g Dcls. werden in 7 ccm Alkohol gelöst und je 1 ccm bei Zimmertemperatur (21°) mit verschiedenen Mengen Wasser verdünnt.

Nach 24 Stunden ist in allen Fällen unabhängig von der Wassermenge praktisch alles zerfallen. Der nach 24 Stunden abgelesene Widerstandswert ist konstant. (Nach 48 Stunden kaum verändert.) Folgende Tabelle gibt die Werte. Die in der 5. Reihe angegebenen Zahlen des berechneten Grenzwiderstandes sind die Werte, die sich theoretisch ergeben müßten, wenn die in der ersten Reihe verzeichneten Mengen Dcls. vollkommen zerfallen wären.

Gramm	Wasser ccm	Widerstand nach 24 Stdn.	Widerstand nach 48 Stdn.	Grenzwiderstand berechnet	Zersetzt in %
0,022	200	875 Ohm	850 Ohm	885	100
0,022	100	440 "	427 "	400	100
0,022	50	233 "	227 "	220	100
0,022	40	186 "	180 "	184	100
0,022	30	160 "	140 "	143	100
0,022	20	114 "	103 "	90	fast 100
0,022	10	58,5 "	57 "	46,8	fast 100

Die Frage, inwiefern ein Überschuß von Th. den Zerfall von Dcls. beeinflußt, sucht folgender Versuch zu beantworten:

2 f) 0,0228 g Dcls. sind in 1 ccm Alkohol gelöst und in 100 ccm Wasser, in dem schon 10 Tropfen — etwa 0,2 g — Th. gelöst sind, verdünnt. Temperatur 20°.

Die Tabelle (vgl. Abb. 5) gibt die Werte für den gemessenen Widerstand. In der 3. Reihe sind die daraus berechneten Werte für die jeweils zerfallene Menge Dcls., in der 4. Reihe die Werte der Funktionen $\log \frac{a}{a-x}$ eingetragen. Die Reaktionskonstante berechnet sich daraus zu 0,0223.

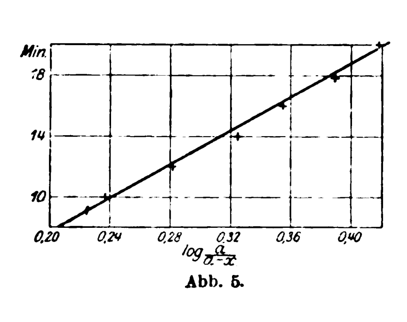


Abb. 5.

Minuten	Ohm	x	$\log \frac{a}{a-x}$
4	2100	—	—
6	1500	—	—
8	1185	—	—
10	1025	6,03	0,238
12	905	6,83	0,282
14	820	7,54	0,325
16	775	7,98	0,355
18	730	8,47	0,390
20	700	8,84	0,418
30	626	—	—
24 Std.	510	12,13	—

Die Anwesenheit von Th. verlangsamt die Reaktion demnach nicht merklich. Nach 24 Stunden ist alles Dcls. zersetzt.

3. Tetrachlordiäthylsulfid (Tcls.). 0,0187 g werden in 1 ccm 90 proz. Alkohol gelöst und mit 100 ccm Wasser verdünnt. Es entsteht in dem Wasser sofort eine gelbliche Trübung, die nicht vergeht, sondern eher

stärker wird. Temperatur rund 19°. Gefäßkonstante 0,47. Folgende Tabelle verzeichnet die gemessenen Widerstände und die daraus ebenso

Minuten	Ohm	$x \cdot 10^7$	$(a-x)\,10^7$	$\log \frac{a}{a-x}$
4	1250	2,47	5,73	0,156
6	1050	2,94	5,26	0,193
8	920	3,36	4,84	0,229
10	850	3,64	4,56	0,255
12	810	3,82	4,38	0,272
14	780	3,96	4,24	0,286
16	765	4,04	4,16	0,296
20	735	4,21	3,99	0,313
24 Std.	580	5,33	2,87	

wie oben berechneten Mengen des jeweils zersetzten Giftes. Hierbei wurde die Voraussetzung gemacht, daß jedes Molekül Tcls. 4 Atome Cl abspaltet. Reihe 4 gibt die Werte der Funktion $(a-x)$, Reihe 5 die von $\log \frac{a}{a-x}$ · 0,0187 g in 100 ccm entsprechend $8{,}2 \cdot 10^{-7}$ g Moleküle pro 1 ccm.

Die Widerstände liegen auch hier auf einer ähnlich gebildeten Kurve wie bei Dcls. (Abb. 6). Trägt man die Werte von $\log \frac{a}{a-x}$ in ein Koordinatensystem, so liegen sie aber nicht auf einer Geraden, sondern auf einer stetig gekrümmten Kurve. Der Typus der Zerfallsreaktion ist demnach nicht der einfach monomolekulare. Die Zersetzung ist hier sicher komplizierter; wahrscheinlich wird dabei auch Schwefel abgespalten. Nach einigen Stunden findet sich ein gelber, pulverförmiger Niederschlag auf dem Boden des Glases, in dem das Tcls. zerfallen ist. Nach 24 Stunden sind nach der Äquivalentleitfähigkeit $21{,}32 \cdot 10^{-7}$ g-Mol. HCl pro 1 ccm vorhanden, während, wenn die ganze Menge Cl des Giftes als Ion abgespalten wäre, $32{,}8 \cdot 10^{-7}$ g-Mol. HCl in der Lösung sein müßte. Es sind demnach nur höchstens 65% des Cl als Ion in die Erscheinung getreten.

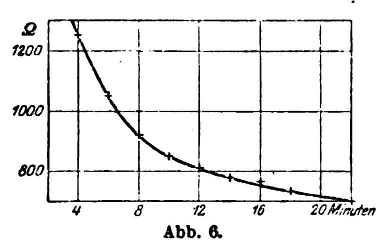


Abb. 6.

4. Thiodiglykolacetat (Tha.). ca. 0,20 g Tha. werden in 10 ccm 90-proz. Alkohol gelöst. 1 ccm davon wird zu rund 20 ccm Leitfähigkeitswasser in das Elektrodengefäß gebracht. Eine Trübung entsteht nicht. Temperatur 19°. Der Widerstand ändert sich zunächst nicht meßbar. Nach 24 Stunden beträgt er noch etwa 17000 Ohm. In diesem Falle ist jedoch die angewandte Methode zur Feststellung einer Zersetzung der Verbindung naturgemäß nicht gut brauchbar.

5. Das Sulfon. 0,12 g Sulfon werden in 6 ccm 90 proz. Alkohol gelöst Es löst sich erst nach längerem Schütteln. 1 ccm davon wird zu 20 ccm

Wasser in das Leitfähigkeitsgefäß gegeben. Temperatur rund 19°. Der Widerstand ändert sich nicht. Er beträgt noch nach 72 Stunden ca. 50 000 Ohm. Das Sulfon gibt also keinen Elektrolyten ab. Es scheint demnach der Sauerstoff am Schwefel das Molekül zu stabilisieren.

III.

Nachdem wir uns derart einen Einblick in das Schicksal, das die untersuchten Stoffe in Wasser erleiden, verschafft hatten, konnten wir daran gehen, ihre Wirkung auf unser Ferment zu studieren.

Die Urease wurde nach der Vorschrift von van Slyke - Cullen hergestellt. Aus der gewonnenen trockenen Substanz stellten wir für jeden Versuch frisch eine Fermentlösung her, indem wir einige Dezigramme mit der 50- oder 100fachen Menge destillierten Wassers aufschwemmten, einige Stunden unter häufigem Schütteln bei 35—45° stehenließen und abfiltrierten. Wir bezeichnen diese Fermentlösung in der Folge als ein- bzw. zweiprozentig, je nachdem die 50- oder 100fache Menge Wasser benutzt war.

Die Versuche wurden im allgemeinen so angesetzt, daß wir in einem Gesamtvolumen von 10 ccm, 1 ccm 2 proz. oder 2 ccm 1 proz. Ureaselösung mit 1 ccm 2 proz. oder 3 proz. Harnstofflösung, die ebenfalls täglich frisch hergestellt wurde, mischten. Dazu wurden wechselnde Mengen bis höchstens 1 ccm alkoholische Giftlösung gegeben. In den Kontrollen wurde die gleiche Menge Alkohol ohne Giftzusatz zugegeben. Der Rest des Gesamtvolumen bestand aus destilliertem Wasser oder einem Gemisch von $^{m}/_{3}$ primärem und sekundärem Natriumphosphat. Durch letzteres wurde die Reaktion geregelt.

Die alkoholische Giftlösung wurde täglich frisch kurz vor Ansetzen der Versuche bereitet. Wir stellten zunächst das durchschnittliche Tropfengewicht unserer Stoffe fest, indem wir wiederholt einige Tropfen in verschlossenen Wageschälchen auswogen und das Gemisch durch die Tropfenzahl dividierten. Ein Tropfen der von uns untersuchten Stoffe wiegt rund 0,02 g. Von den festen Stoffen wogen wir Mengen von derselben Größenordnung ab. Die Reihenfolge, in der wir die Reagenzien mischten, war im allgemeinen ohne Pause: Urease, Gift, Harnstoff. Bei einigen besonders erwähnten Versuchen ist davon abgewichen worden. Nach der Mischung blieben die Versuche 2 Stunden bei Zimmertemperatur gut verkorkt stehen. Darauf wurde der Fermentprozeß unterbrochen, indem zu jedem Versuch 20 ccm 0,1 n-HCl-Lösung pipettiert wurde. Das Gesamtvolumen wird dadurch auf 30 ccm vermehrt. In je 10 ccm wurde die entstandene Menge

Ammoniak gemessen. Das Ammoniak wurde im Mikro-Kjeldahl-Apparat in der Anordnung von Ivar Bang mit Wasserdampf in eine Vorlage von 0,01 n-HCl-Lösung überdestilliert, nachdem die Analysenprobe im geschlossenen Apparat mit Soda (10% Soda in 10proz. NaCl-Lösung) gegen Neutralrot eben alkalisch gemacht war. Die Vorlage wurde jodometrisch titriert. Der Fehler dieser Methode beträgt nach Ivar Bang bei der Destillation einiger Milligramm Ammoniak höchstens 0,07 mg NH_3. Unsere Vorversuche ergaben dasselbe Resultat. Da wir nun zu einer Destillation den 3. Teil des Gesamtvolumens benutzten, tritt bei Berechnung des Gesamtumsatzes der evtl. Fehler dreifach vergrößert in Rechnung. Wir haben deshalb mit einem Gesamtfehler von 0,3 mg gerechnet und nehmen im folgenden eine Hemmung nur dann an, wenn die Differenz gegen die Kontrolle diese Fehlergrenze übersteigt, und wenn diese Differenz bei öfterer Wiederholung des Versuches immer wieder beobachtet wurde. Bei einer großen Anzahl von Versuchen haben wir die Wasserstoffionenkonzentrationen gemessen, soweit es anging, elektrometrisch gegen eine gesättigte Kalomelelektrode. Wir benutzen dazu eine Durchströmungselektrode nach Michaelis. Bei Lösungen, die Gift, besonders Dcls und Tcls enthielten, versagte aber die elektrische Methode, weil das Potential sich nicht richtig einstellte, sei es deshalb, weil das Gift die Elektrode vergiftet, sei es, weil es die Wasserstoffatmosphäre verunreinigt. Bei diesen Lösungen maßen wir die Reaktion kolorimetrisch nach der Methode von Michaelis, bei alkalischer und neutraler Reaktion mit m-Nitrophenol als Indicator, bei saurer mit p-Nitrophenol oder mit Dinitrophenol. Die Werte, die diese Methode gibt, stimmen (in den Fällen, wo ein Vergleich möglich ist) mit den elektrometrisch gemessenen sehr gut überein. Eine Differenz macht sich meist erst in der zweiten Dezimale geltend. Alle Versuche sind doppelt angesetzt, und nur solche Versuche sind verwendet, bei denen die Kontrollen gute Übereinstimmung ergaben.

I. Thiodiglykol.

Einige Tropfen Thiodiglykol sind in so viel ccm 90 proz. Alkohol gelöst, daß 1 ccm Alkohol 2 Tropfen (ca. 0,04 g) enthält. 1 ccm dieser Lösung wird zum Versuch benutzt. Die weitere Anordnung ergibt sich aus dem oben Mitgeteilten und aus folgender Tabelle. In zwei besonderen Gläsern Nr. 1 und Nr. 4 wurde kurz vor Unterbrechung des Versuches, also 2 Stunden nach Ansetzen der Mischung, die [H˙] gemessen (kolorimetrisch). Die Lösungen enthalten keine Puffer.

Die Reaktion ist nach 2 Stunden stark alkalisch ($p_H = 9{,}50$ und 9,57). Es sind in allen Gläsern 77—80% des Harnstoffs gespalten. Die maximale Differenz zwischen den einzelnen Werten beträgt 0,36 mg N, übersteigt also nicht die Fehlergrenze.

Tabelle 1.

Nr.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1		9,57			
2	7	1	1	"	—	1			7,40	79	100
3	7	1	1	"	—	1			7,47	80	
4	7	1	1	Thiodiglykol	2	1		9,50			
5	7	1	1	"	2	1			7,56	81	
6	7	1	1	"	2	1			7,20	77	

Resultat: Thiodiglykol hemmt die Urease (in pufferfreier Lösung) nicht.

Der nächste Versuch wurde in einem Gemisch von primärem und sekundärem Phosphat im Verhältnis 1 : 2 angesetzt. Die Reaktion der Mischung ist elektrometrisch gemessen $p_H = 7{,}06$. In einem besonderen Glase wurde die Reaktion, nachdem Urease und 1 ccm Alkohol zugesetzt waren, noch einmal kolorimetrisch bestimmt (Nr. 3) und $p_H = 7{,}12$ gefunden. In zwei anderen Gläsern, deren Inhalt wie die übrigen zusammengestellt ist, wurde 2 Stunden nach Ansetzen, kurz bevor die zur Analyse bestimmten Versuche unterbrochen wurden, die [H˙] wiederum kolorimetrisch gemessen (Nr. 4 und 5) und p_H zu 7,47 und 7,42 gefunden. Auch hier ist die Mischung alkalischer geworden, aber bei weitem nicht in dem Maße wie bei dem pufferfreien Versuch.

In allen Gläsern sind 62—67% des Harnstoffes gespalten. Die maximale Differenz liegt innerhalb der Fehlergrenze.

Tabelle II.

Nr.	Phosphat ¹/₃ Mol. 1 prim : 2 sek.		Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	p_H	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	7,06	1	1	1	Alkohol 90%	—	1			5,77	62	100
2	6		1	1	1	"	—	1			6,20	68	
3	6		1	1	1	"	—	1	7,12		—		
4	6		1	1	1	"	—	1		7,47	—		
5	6		1	1	1	Thiodiglykol	2	1		7,42	—		
6	6		1	1	1	"	2	1			5,88	63	
7	6		1	1	1	"	2	1			6,10	67	

Resultat: Thiodiglykol hemmt Urease nicht.

Ganz ähnlich sind die folgenden Versuche zusammengestellt. Alle enthalten starke Phosphatpuffer von neutraler bis leicht alkalischer Reaktion.

Bei allen diesen Versuchen ergibt sich, daß in allen Gläsern, mit und ohne Thiodiglykol, gleich viel Harnstoff gespalten ist (siehe die folgenden Tabellen). Überall liegen die Differenzen innerhalb der Fehlergrenzen. Bei dem letzten dieser Versuche hatte das Thiodiglykol ca. 20 Stunden auf die Urease eingewirkt, ehe zum Schluß Harnstoff zugefügt wurde.

Als Resultat also ist festzustellen, daß Thiodiglykol für Urease weder in pufferfreier noch in pufferhaltiger Lösung giftig ist.

Versuch 3: Die Giftlösung enthält 2 Tropfen in 1 ccm Alkohol. 0,5 ccm davon werden zu jedem Versuch benutzt. In Nr. 1 und 2 werden Urease, Harnstoff und Gift kurz hintereinander in die Phosphatmischung gebracht. In Nr. 3 und 4 folgt der Harnstoff 2 Stunden, nachdem Ferment und Gift gemischt sind. Reaktion neutral.

Tabelle III.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol 1 pr. : 2 sek.	Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	0,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,4	47	100
2	6	0,5	1	1	Thiodiglykol	1	0,5	4,4		
3	6	0,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,4		
4	6	0,5	1	1	Thiodiglykol	1	0,5	4,38		

In allen Gläsern ist der Umsatz gleich groß. Resultat: Thiodiglykol hemmt nicht, auch wenn es längere Zeit (2 Stunden) in harnstoffreier Lösung auf das Ferment wirkt.

Versuch 4: Anordnung wie im Versuch 3. Die Giftlösung enthält 2 Tropfen Th. pro 1 ccm Alkohol. In Nr. 1—3 ist die Versuchsmischung ohne Pause angesetzt, in Nr. 4—6 ist Harnstoff zwei Stunden, nachdem Ferment und Gift gemischt worden zugegeben. Reaktion neutral.

Tabelle IV.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol 1 pr. : 2 sek.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,5	49	100
2	6	1	1	1	Th.	1	0,5	4,8	52	
3	6	1	1	1	Th.	1	0,5	4,7	51	
4	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,4	48	
5	6	1	1	1	Th.	1	0,5	5,0	54	
6	6	1	1	1	Th.	1	0,5	4,8	52	

Auch in diesem Versuch hat Th. die Urease nicht gehemmt.

Versuch 5: In diesem Versuch ist eine dreimal stärkere Menge Th. angewendet. Anordnung wie im Versuch 3. Nr. 1, 2, 5, 6 ohne Pause gemischt; in Nr. 3, 4, 7, 8 Harnstoff angesetzt nach einer Pause von 2 Stunden. Reaktion neutral.

Tabelle V.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol 1 pr. : 2 sek. ccm	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			Umsatz		
						Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	5,2	56	100
2	6	1	1	1	"	—	1	4,8	51	
3	6	1	1	1	"	—	1	5,2	56	
4	6	1	1	1	"	—	1	5,0	54	
5	6	1	1	1	Th.	3	1	5,2	56	
6	6	1	1	1	"	3	1	4,8	51	
7	6	1	1	1	"	3	1	4,9	53	
8	6	1	1	1	"	3	1	4,8	51	

Resultat: Umsatz in allen Gläsern (fast) gleich. Th. hat nicht gehemmt.

Versuch 6: Mischung wie in Versuch 5. Nr. 1—4 ohne Pause gemischt. In Nr. 4—8 wird zunächst nur Ferment- und Giftlösung in die Phosphatmischung gebracht und 20 Stunden stehen gelassen. Erst nach Ablauf dieser Zeit folgt der Harnstoff nach. Reaktion neutral.

Tabelle VI.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol 1 pr. : 2 sek. ccm	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			Umsatz		
						Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	5,5	59	100
2	6	1	1	1	"	—	1	5,3	57	
3	6	1	1	1	Th.	3	1	5,0	54	
4	6	1	1	1	Th.	3	1	5,0	54	
5	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	5,6	60	
6	6	1	1	1	"	—	1	5,2	56	
7	6	1	1	1	Th.	3	1	5,3	57	
8	6	1	1	1	Th.	3	1	5,1	55	

Resultat: Th. hemmt das Ferment auch dann nicht, wenn es 20 Stunden auf dasselbe eingewirkt hat.

Zusammenfassung: Thiodiglykol ist für Urease nicht giftig.

II. Thiodiglykolacetat (Tha.).

Versuch 1: Versuchsanordnung wie oben in pufferfreier Lösung. Die Giftlösung enthält 2 Tropfen pro 1 ccm Alkohol. Die [H˙] wurde in einem besonderen Glase (Nr. 1) elektrometrisch gemessen, nachdem

Wasser Urease und 1 ccm Alkohol gemischt waren. — $p_H = 7,21$, die Reaktion ist also leicht alkalisch. In 2 weiteren Gläsern, die genau wie die übrigen zusammengesetzt sind, ist die [H˙] 3 Stunden nach dem Ansetzen des Versuches, kurz vor Unterbrechung der zur Analyse bestimmten Versuche, colorimetrisch gemessen worden; $p_H = 9,31$ und 9,20 (Nr. 2 und 4). Die Reaktion ist also sowohl in dem giftfreien (Nr. 2), wie in dem gifthaltigen Glase (Nr. 4) stark alkalisch geworden, d. h. das Tha hat nicht soviel Säure abgespalten, daß dadurch die Alkalität der Ammoniaklösung beeinflußt worden wäre. Unterbrochen wurde nach 3 Stunden (siehe Tabelle VII).

Das Resultat dieses Versuches:

Der Umsatz beträgt in allen Gläsern 56%. Eine Hemmung ist nicht zu verzeichnen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse im Versuch 2 (Tabelle VIII).

Das Resultat entspricht dem des vorigen Versuches:

Es ist keine Säuerung eingetreten und das Ferment ist nicht gehemmt worden.

Tabelle VII.

Nr.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1	7,21				
2	7	1	1	„	—	1		9,31			
3	7	1	1	„	—	1			5,2	56	100
4	7	1	1	Tha.	2	1		9,20			
5	7	1	1	„	2	1			5,2	56	100
6	7	1	1	„	2	1			5,2	56	

Tabelle VIII.

Nr.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1	5,6	60	100
2	7	1	1	„	—	1	5,3	57	
3	7	1	1	Tha.	2	1	5,4	57	
4	7	1	1	„	2	1	5,9	64	

Versuch 3: Dieser Versuch ist in Phosphatmischung 1:2 angesetzt. Die Reaktion des Puffergemisches ist elektrometrisch gemessen $p_H = 6,95$, ist also neutral. Im Glas Nr. 1 ist die Reaktion, nachdem Phosphat, Urease und 1 ccm Alkohol gemischt waren, noch einmal colorimetrisch bestimmt zu $p_H = 7,12$. Außerdem wurde in 2 Gläsern, die die Zusammensetzung der übrigen hatten, p_H noch einmal nach 2 Stunden, kurz vor der Unterbrechung des Versuches colorimetrisch gemessen zu $p_H = 7,51$ (Nr. 2) und $p_H = 7,40$ (Nr. 5). Die Reaktion ist auch hier wenig alkalischer geworden. Jedenfalls ist durch das Tha keine Säuerung eingetreten (Tabelle IX).

Tabelle IX.

Nr.	Phosphat $p_H = 6,95$	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift	Gift Tropfen	Gift ccm	p_H vorher	p_H nachher	Umsatz mg N	Umsatz %	Umsatz relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	7,12				
2	6	1	1	1	"	—	1		7,51			
3	6	1	1	1	"	—	1			5,46	58	100
4	6	1	1	1	"	—	1			5,25	55	
5	6	1	1	1	Tha.	2	1		7,40			
6	6	1	1	1	"	2	1			5,45	58	100
7	6	1	1	1	"	2	1			5,13	54	

Resultat: Das Ferment ist nicht gehemmt worden.

Zusammenfassung: Thiodiglykolacetat verändert die Reaktion des Versuchsgemisches nicht wesentlich und hemmt die Urease nicht.

III. Das Sulfon.

Nach Leitfähigkeitsmessungen ist auch vom Sulfon keine Verschiebung der [H˙] nach der sauren Seite zu erwarten. Der folgende Versuch ist in reinem Wasser angesetzt. In Glas Nr. 1 wurde die [H˙] wie oben colorimetrisch gemessen, nachdem Urease und 1 ccm Alkohol in das Wasser gebracht waren: $p_H = 7,12$. In zwei weiteren Gläsern (Nr. 2 und 5) wird die Reaktion nach 3 Stunden kurz vor Unterbrechung des Versuches bestimmt. In dem giftfreien Glase Nr. 2 wird $p_H = 9,57$. in dem gifthaltigen Nr. 5 $p_H = 8,73$ gefunden. Beide Versuche sind also alkalisch geworden, aber der gifthaltige nicht so stark wie die Kontrolle. Das erklärt sich dadurch, daß in diesem Glase weniger Ammoniak entstanden ist (6,30 mg N gegenüber rund 7,2). Die Giftlösung enthielt ca. 0,04 g Sulfon pro 1 ccm Alkohol.

Resultat: Das Sulfon hat die Fermentwirkung deutlich, wenn auch in geringem Grade gehemmt. Die Differenz der N-Werte mit und ohne Gift beträgt rund 1 mg N. Das liegt deutlich außerhalb der Fehlergrenze (s. Tabelle X).

Tabelle X.

Nr.	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift	Gift g	Gift ccm	p_H vorher	p_H nachher	Umsatz mg N	Umsatz %	Umsatz relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%		1	7,12				
2	7	1	1	"		1		9,57			
3	7	1	1	"		1			7,19	76	100
4	7	1	1	"		1			7,35	79	
5	7	1	1	Sulfon	0,04	1		8,73			
6	7	1	1	"	0,04	1			6,30	68	87
7	7	1	1	"	0,04	1			6,30	69	

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Versuch 2 (Tabelle XI).

Tabelle XI.

Nr.	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			Umsatz		
					Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1	5,6	60	}100
2	7	1	1	„	—	1	5,3	57	
3	7	1	1	Sulfon	2	1	4,5	48	80
4	7	1	1	„	2	1	4,9	52	86
5	7	1	1	„	2	1	4,4	47	80

Der dritte Versuch (Tabelle XII) ist in einem Phosphatgemisch angesetzt, dessen Reaktion elektrometrisch gemessen wurde zu $p_H = 7{,}06$. In Glas 1 wurde die [H˙] wieder gemessen, ehe Gift oder Harnstoff zugesetzt waren: $p_H = 7{,}12$. In Nr. 2 und 5 wurde die [H˙] 2 Stunden nach Ansetzen des Versuches kurz vor Unterbrechung colorimetrisch bestimmt. In der giftfreien Lösung Nr. 2 ist $p_H = 7{,}37$, in der gifthaltigen Nr. 5 $p_H = 7{,}32$. Die Reaktion ist also in beiden wenig, aber in gleicher Weise alkalisch geworden. Der Versuch wurde nach 2 Stunden unterbrochen.

Tabelle XII.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol $p_H = 7{,}06$	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	p_H		Gift			Umsatz		
					vorher	nachher		g	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	7,12		Alkohol 90%	—	1			
2	6	1	1	1		7,37	„	—	1			
3	6	1	1	1			„	—	1	5,77	61	}100
4	6	1	1	1			„	—	1	6,20	66	
5	6	1	1	1		7,32	Sulfon	0,04	1			
6	6	1	1	1			„	0,04	1	4,20	45	}70
7	6	1	1	1			„	0,04	1	4,20	45	

Als Resultat des letzten Versuches ist zu vermerken, daß in den gifthaltigen Gläsern nur 4,2 mg N gegen 6 mg N in den Kontrollen gefunden wurde. Das Sulfon hat das Ferment also deutlich gehemmt.

Zusammenfassung: Das Sulfon ändert die Reaktion nicht. Es hemmt aber das Ferment in pufferfreier und in pufferhaltiger Lösung, zwar nicht stark, aber deutlich und gut reproduzierbar. Diese Hemmung („Giftwirkung") ist demnach nicht die Wirkung einer ungünstigen Reaktion.

IV. Dichlordiäthylsulfid (Dcls.).

Wie die Leitfähigkeitsmessungen gezeigt haben, zerfällt das Dichlordiäthylsulfid in Wasser ziemlich schnell unter Abspaltung

von freier Salzsäure. Bringt man also einen Tropfen davon, in etwas Alkohol gelöst, in etwa 10 ccm reines Wasser, so muß dieses schnell erheblich sauer werden. Ein Tropfen Dichlordiäthylsulfid wiegt rund 0,02 g — etwa 13,8 10^{-5} g Moleküle (in 10 ccm Wasser), d. h. 13,8 10^{-6} pro 1 ccm Wasser. Die Reaktionskonstante des Zerfalls war oben bei 20° etwa zu 0,02 berechnet worden. Mit dieser Konstanten ist die nach einer bestimmten Zeit zerfallene Menge Dichlordiäthylsulfid leicht zu berechnen. a sei die anfangs pro 1 ccm vorhandene Menge Dichlordiäthylsulfid (13,8 10^{-6}), x sei die zur Zeit t gleich 2 Stunden — 120 Minuten — zerfallene Menge Dichlordiäthylsulfid. Setzen wir diese Werte in die Reaktionsformel ein, so ergibt sich

$$\log \frac{13{,}8 \cdot 10^{-6}}{13{,}8 \cdot 10^{-6} - x} = 0{,}02 \cdot 120 = 2{,}4 .$$

$x = 13{,}7\ 10^{-6}$ g Moleküle pro 1 ccm. d. h. nach 2 Stunden ist praktisch alles Dichlordiäthylsulfid zerfallen. Aus den zerfallenen 13,7 10^{-6} pro 1 ccm, (das macht 13,7 10^{-5} g Moleküle pro 10 ccm zerfallenden Giftes), sind 26,6 10^{-5} g Moleküle HCl in den 10 ccm Wasser entstanden, d. h. 0,0266 Mol pro Liter. Die Lösung ist also 0,0266 normal in bezug auf Salzsäure geworden. Eine so starke Säure muß eine erhebliche Hemmung der Fermentwirkung zur Folge haben. Der nächste Versuch bestätigt das.

Versuch 1: Die Giftlösung enthält 2 Tropfen Dcls in 1 ccm Alkohol. 0,5 ccm davon werden zu jedem Versuch benutzt, entsprechend einem Giftgehalt von einem Tropfen Gift. Der Versuch ist in reinem Wasser angesetzt. In Glas Nr. 1 wurde die Reaktion gemessen, ehe Gift und Harnstoff zugetan

Tabelle XIII.

Nr.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	7,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	7,3				
2	7,5	1	1	„	—	0,5		8,92			
3	7,5	1	1	„	—	0,5			3,95	42	} 100
4	7,5	1	1	„	—	0,5			3,65	39	
5	7,5	1	1	Dcls.	1	0,5		2,5			
6	7,5	1	1	„	1	0,5			0	0	0
7	7,5	1	1	„	1	0,5			0	0	0

Die Tabelle zeigt, daß in den gifthaltigen Gläsern die Fermentwirkung vollkommen gehemmt worden ist.

waren, zu $p_H = 7{,}30$. Die anfängliche Reaktion ist also leicht alkalisch, optimal. In zwei anderen Gläsern, die wie die übrigen zusammengesetzt sind, wird die [H˙] nach 2 Stunden, kurz vor Unterbrechung des Versuches ebenfalls colorimetrisch bestimmt. In der giftfreien Lösung Nr. 2 findet sich $p_H = 8{,}92$, in der gifthaltigen (Nr. 5) dagegen $p_H = 2{,}5$. Während die Kontrolle stark alkalisch geworden ist, hat das Dcls die Lösung stark sauer gemacht. Die Tabelle XIII zeigt, daß in den gifthaltigen Gläsern das Ferment vollkommen gehemmt worden ist, während in den Kontrollen rund 40% Harnstoff umgesetzt sind.

Ganz analog verläuft der 2. Versuch (Tabelle XIV), doch enthält die Giftlösung hier nur einen halben Tropfen Dcls pro Versuch. Auch hier weist die Messung der [H˙] in den Kontrollen eine starke Reaktionsänderung nach der alkalischen Seite hin nach (Nr. 1: $p_H = 9{,}50$), während die Versuche mit Dcls stark sauer geworden sind (Nr. 4: $p_H = 4{,}2$).

Tabelle XIV.

Nr.	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			p_H nachher	Umsatz		
					Tropfen	ccm		mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1	9,5			
2	7	1	1	"	—	1		5,63	60	100
3	7	1	1	"	—	1		5,65		
4	7	1	1	Dcls.	$^1/_2$	1	4,2			
5	7	1	1	"	$^1/_2$	1		0	0	0
6	7	1	1	"	$^1/_2$	1		0	0	0

Auch in diesem Versuch hat Dcls. die Urease völlig gehemmt.

Auch der 3. Versuch bestätigt das (vgl. Tabelle XV). Die Giftlösung enthielt hier wieder einen Tropfen pro Versuch. Die Reaktion wird nach Ablauf von 2 Stunden in der Kontrolle Nr. 2 stark alkalisch gefunden: $p_H = 9{,}32$, in der Giftlösung aber stark sauer, $p_H = 2{,}5$. Resultat: völlige Hemmung.

Tabelle XV.

Nr.	Dest. Wasser ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			p_H nachher	Umsatz		
					Tropfen	ccm		mg N	%	relativ
1	7	1	1	Alkohol 90%	—	1		5,12	55	100
2	7	1	1	"	—	1	9,32			
3	7	1	1	"	—	1		5,35	57	100
4	7	1	1	Dcls.	1	1	2,5			
5	7	1	1	"	1	1		0	0	0
6	7	1	1	"	1	1		0	0	0

Das Dcls hemmt also in pufferfreier Lösung die Ureasewirkung vollkommen in Mengen von $^1/_2$—1 Tropfen in 10 ccm Wasser. Diese Hemmung

wird durch die starke Säure, die durch den Zerfall des Giftes eingetreten ist, durchaus erklärt.

Um zu prüfen, ob das Dcls, auch abgesehen von der Säurebildung, eine Hemmung auf das Ferment ausübt, mußte man die Reaktionsänderung zu verhindern suchen dadurch, daß man die [H˙] durch starke Puffer festlegte. Wir setzten daher die folgenden Versuche in einem Gemisch von primärer und sekundärer $^{m}/_{3}$-Phosphatlösung an.

War anfangs die durch die Puffermischung festgelegte [H˙] $1 \cdot 10^{-7}$, so berechnet sich nach einem Zufügen von einem Tropfen Dcls bei den vorhandenen Versuchsbedingungen die [H˙] nach 2 Stunden auf etwa $1{,}6 \cdot 10^{-7}$, eine relativ geringe Änderung. Dabei ist das etwa entstehende Ammoniak außer Acht gelassen, das die Vermehrung der [H˙] zum Teil kompensiert. Bei Benutzung von 1 ccm 2 proz. Harnstofflösung, wie das in unseren Versuchen meist der Fall war, würde, wenn der gesamte Harnstoff gespalten würde, ein Drittel mg-Mol. NH_3 entstehen, bei einem Umsatz von 50% also ein Sechstel mg-Mol. Die [H˙] würde dabei etwa den Wert $1{,}2 \cdot 10^{-7}$ annehmen.

Das Resultat dieser Überlegungen ist also, daß bei der von uns verwendeten Menge Puffer eine für die Urease ungünstigere [H˙] nicht entstehen kann, daß somit die Puffer die durch die Säurewirkung allein bewirkte Hemmung verhindern können. Um sicher zu gehen, haben wir auch die [H] in mehreren Versuchen gemessen, und zwar, wie schon mehrfach oben beschrieben, vorher, d. h. in einem besonderen Glase, ehe Gift und Harnstoff zugegeben waren, und nachher, d. h. nach Ablauf von 2 Stunden, kurz ehe die zur Analyse bestimmten ebenso zusammengesetzten Versuche unterbrochen wurden.

Der folgende 4. Versuch ist wie oben beschrieben zusammengesetzt. Die Reaktion ist durch Phosphatgemisch 1 : 2 festgelegt.

Tabelle XVI.

Nr.	Phosphat $^{1}/_{3}$ Mol 1 pr. : 2 sek.	Dest. Wasser	1% Urease	8% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	0,5	2	1	Alkohol 90%	—	1	3,2	23	100
2	6	0,5	2	1	"	—	1	3,2		
3	6	0,5	2	1	Dcls.	1	1	2,5	17	74
4	6	0,5	2	1	"	1	1	2,5		

Das Resultat ist: in den Gläsern, die Gift enthielten, sind 2,5 mg N gefunden, in den Kontrollen dagegen 3,2 mg, eine Differenz, die die Fehlergrenze deutlich, wenn auch im mäßigen Grade überschreitet. Der Umsatz ist also durch Dichlordiäthylsulfid auch in der pufferhaltigen Lösung um rund 25% herabgesetzt.

Ganz ebenso verläuft der Versuch 5 (s. Tabelle XVII).

Tabelle XVII.

Nr.	Phosphat $1/3$ Mol 1pr.: 2 sek.	Dest. Wasser	1% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	5	2	1	2	Alkohol 90%	—	0,5	3,4	36	100
2	5	2	1	2	"	—	0,5	3,2	34	
3	5	2	1	2	Dcls.	1	0,5	2,6	28	76
4	5	2	1	2	"	1	0,5	2,4	26	

Während in den Kontrollen ca. 3,3 mg N gefunden worden sind, enthalten die gifthaltigen Gläser nur 2,5 mg. Also auch hier eine Herabsetzung des Umsatzes um 25%.

Der Versuch 6 (s. Tabelle XVIII) ergibt dasselbe Resultat.

Tabelle XVIII.

Nr.	Phosphat $1/3$ Mol 1pr.: 2 sek.	Dest. Wasser	1% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	0,5	2	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,5	49	100
2	6	0,5	2	1	"	—	0,5	4,4	48	
3	6	0,5	2	1	Dcls.	1	0,5	3,6	38	75
4	6	0,5	2	1	"	1	0,5	2,7	29	61

In den gifthaltigen Gläsern werden höchstens 3,6 mg, in den Kontrollen dagegen 4,4—4,5 mg N gefunden. Hemmung um 25%.

Dichlordiäthylsulfid hemmt also die Urease auch in einer Lösung, in der eine wesentliche Änderung der [$H^{\cdot}$] nicht eintreten konnte. Diese Hemmung ist gering, aber deutlich und gut reproduzierbar. Während in dem letzten Versuche (6) die Gläser 1—3 in der üblichen Weise gemischt waren, so daß alle Reagenzien kurz hintereinander in die Phosphatlösung gebracht wurden, war bei Nr. 4, Harnstoff erst 2 Stunden, nachdem die übrigen Stoffe gemischt waren, zugegeben worden. In diesem Glase ist nun ein wesentlich geringerer Umsatz als in Nr. 3 zu bemerken. Es hatte so zunächst den Anschein, als ob der Harnstoff in Nr. 3 eine gewisse Schutzwirkung auf das Ferment ausgeübt hätte, so daß die Hemmung hier nicht so stark ausfiel wie in der Lösung Nr. 4, in der das Gift 2 Stunden ohne die Anwesenheit von Harnstoff auf das Ferment gewirkt hatte. Diese „Schutzwirkung" des Harnstoffes ist ohne Schwierigkeiten erklärlich, wenn man bedenkt, daß zwar nicht der Harnstoff, aber das entstehende

Ammoniak die Pufferwirkung unterstützt, indem es eine Verschiebung der [H˙] nach der sauren Seite verhindert. Diese Schutzwirkung muß noch deutlicher in die Erscheinung treten, wenn man bei derselben Versuchsanordnung größere Mengen Dichlordiäthylsulfid verwendet, die soviel Säure abspalten, daß die Phosphatpuffer allein eine Säuerung nicht verhindern können, so daß also die Hemmung, die aus einer ungünstigen [H˙] resultiert, sich wieder geltendmachen kann. Zur Prüfung dieser Frage haben wir einige besondere Versuche angestellt. Die Versuchsanordnung war dabei die folgende.

Zu einem in der oben beschriebenen Weise angesetzten Versuche, bei dem alle Reagenzien zu gleicher Zeit gemischt wurden, wird ein Parallelversuch angesetzt derart, daß der Harnstoff zuletzt und zwar erst nach Ablauf von 2 Stunden zugegeben wird, so daß also das Gift 2 Stunden in harnstoffreier Lösung auf das Ferment wirkt, ehe die Wirkung desselben geprüft wird.

Versuch 7: (Tabelle XIX). Die Giftlösung enthält 1 Tropfen Dcls pro Versuch. In Nr. 1—3 sind alle Stoffe zugleich gemischt, in 4—6 ist der Harnstoff erst nach 2 Stunden zugegeben.

Tabelle XIX.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol. 1 pr. : 2 sek. ccm	2% Urease ccm	2% Harnstoff ccm	Gift			Umsatz		
					Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,62	49,5	100
2	6	1	1	Dcls	1	0,5	3,61	38,6	78
3	6	1	1	"	1	0,5	3,86	41,3	83
4	6	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,66	50,0	100
5	6	1	1	Dcls	1	0,5	3,65	39	79
6	6	1	1	Dcls	1	0,5	3,65		

Resultat: Ein Unterschied zwischen den beiden zu verschiedenen Zeiten gemischten Versuchen zeigt sich nicht. Wohl aber ist eine in allen Gläsern, die Gift enthielten, gleichmäßige Hemmung um rund 20% zu verzeichnen, die sicher außerhalb der Fehlergrenzen der Methode fällt.

Versuch 8 (Tabelle XX): Zusammensetzung wie in Versuch 7. Nr. 1—6 Mischung aller Teile zu gleicher Zeit, Nr. 7—9 Harnstoff zuletzt nach 2 Stunden zugesetzt. In diesem Versuch wurde auch die [H˙] gemessen. Die Pufferlösung hat einen p_H von 6,95. Colorimetrisch wird vor dem Versuch die Reaktion gemessen zu $p_H = 7,2$, nach dem Versuch in den gifthaltigen Gläsern zu $p_H = 7,1$; es ist also keine Änderung der Reaktion eingetreten und zwar weder in den Gläsern, in denen Harnstoff sofort, noch in denen, in denen er nach 2 Stunden zugegeben wurde.

Tabelle XX.

Nr.	Phosphat $^1/_2$ Mol 1 pr.:2sek.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkoh. 90%	—	1	7,2				
2	6	1	1	1	"	—	1			4,83	51	} 100
3	6	1	1	1	"	—	1			4,70	50	
4	6	1	1	1	Dcls.	1	1		7,1			
5	6	1	1	1	"	1	1			3,15	34	66
6	6	1	1	1	"	1	1			3,40	36	70
7	6	1	1	1	"	1	1		7,1			
8	6	1	1	1	"	1	1			3,10	33	65
9	6	1	1	1	"	1	1			3,00	32	63

Resultat: Hemmung von 30—35%, in allen Gläsern, die Gift enthielten und zwar in allen gleichmäßig.

In den folgenden Versuchen wurde eine weit größere Menge Dichlordiäthylsulfid zur Anwendung gebracht. Die Giftlösung enthielt bei diesen Versuchen 3 Tropfen pro ccm Alkohol, war also dreimal so stark wie bisher.

Versuch 9 (Tabelle XXI): Nr. 1—3 sind zu gleicher Zeit gemischt, in Nr. 4—6 mit einer Pause von 2 Stunden vor der Zugabe von Harnstoff.

Tabelle XXI.

Nr.	Phosphat $^1/_2$ Mol	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	4,5	48	100
2	6	1	1	1	Dcls.	3	1	2,9	30	} 64
3	6	1	1	1	"	3	1	2,9	30	
4	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	4,2	45	100
5	6	1	1	1	Dcls.	3	1	1,0	11	24
6	6	1	1	1	"	3	1	1,3	14	31

Resultat: In allen Gläsern, die Gift enthielten, erhebliche Hemmung und zwar wesentlich stärker in Nr. 5 und 6 als in Nr. 2 und 3. Hier ist also die „Schutzwirkung" des Harnstoffs oder besser des Ammoniaks wieder deutlich zu beobachten. Die entwickelte Säuremenge war hier so groß, daß die Puffer nicht mehr ausreichten, um die [H˙] festzuhalten. Eine einfache Überschlagsrechnung zeigt, daß die entstandenen $^3/_4$ Millimol HCl die Reaktion auf $p_H = 6{\cdot}3$ verschieben mußten. Durch die gleichzeitige Ammoniakbildung wird das zum Teil kompensiert, was als „Schutzwirkung" in Erscheinung tritt.

Bei allen oben beschriebenen Versuchen konnte eine Hemmung durch Dichlordiäthylsulfid auch in starken Pufferlösungen beobachtet werden. Solange die Reaktion des Mediums nun neutral ist, kann man trotz der Puffer im Zweifel sein, ob nicht doch die entstehende Säure das hemmende Agens ist, denn da die ungefähr neutrale Reaktion die Grenze für das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration darstellt, so könnte durch Vermehrung der [H˙] die Reaktion nur ungünstiger werden. Wählt man aber von vornherein eine alkalische, nicht optimale Reaktion, so kann eine Verschiebung der Reaktion nach neutral hin, falls sie überhaupt zustande kommt, die [H˙] nur günstiger gestalten. Dichlordiäthylsulfid müßte in diesem Falle die Ureasewirkung begünstigen, wenn seine Wirkung nur auf einer Vermehrung der [H˙] beruhte.

Die folgenden Versuche sind deshalb bei alkalischer Reaktion angesetzt. Die [H˙] von den Puffern sowohl als auch von der Reaktionsmischung wurde dabei vor und nach Ablauf des zweistündigen Versuches gemessen.

Versuch 10 (Tabelle XXII): p_H der Phosphatmischung 7,6; p_H des Reaktionsgemisches zu Anfang 7,6, nach Ablauf von 2 Stunden 7,5, also keine wesentliche Änderung der [H˙].

Tabelle XXII.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol p_H 7,6	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	7,8				
2	6	1	1	1	„	—	1			8,8	94	100
3	6	1	1	1	„	—	1			8,4	89	
4	6	1	1	1	Dcls	1	1		7,5			
5	6	1	1	1	„	1	1			6,7	71	76
6	6	1	1	1	„	1	1			6,7	71	

Resultat: Hemmung um 24% wie bei den früheren Versuchen.

Versuch 11 (Tabelle XXIII): Anordnung wie in Versuch 10. p_H des Puffers 7,54, des Reaktionsgemisches vor Beginn der Spaltung 7,64, nach Ablauf von 2 Stunden 7,56, also keine Reaktionsänderung.

Versuch 12 (Tabelle XXIV): Giftlösung doppelt so stark wie in Versuch 11; p_H 8,1 (reines sekundäres Natriumphosphat); p_H des Reaktionsgemisches zu Beginn 8,26, gegen Ende (nach 3 Stunden) des Versuches in den Kontrollen 9,30, in den gifthaltigen Gläsern 7,81.

Tabelle XXIII.

Nr.	Phosphat p_H 7,54	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	7,64				
2	6	1	1	1	„	—	1			5,7	61	} 100
3	6	1	1	1	„	—	1			5,7	61	
4	6	1	1	1	Dcls	1	1		7,56			
5	6	1	1	1	„	1	1			3,5	37	} 61
6	6	1	1	1	„	1	1			3,6	38	

Resultat: Hemmung um 40%.

Tabelle XXIV.

Nr.	Phosphat p_H 8,1	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alkohol 90%	—	1	8,26				
2	6	1	1	1	„	—	1		9,30			
3	6	1	1	1	„	—	1			4,3	} 46	100
4	6	1	1	1	„	—	1			4,3		
5	6	1	1	1	Dcls	2	1		7,81			
6	6	1	1	1	„	2	1			3,2	} 33	74
7	6	1	1	1	„	2	1			3,2		

Resultat: Obgleich die Reaktion stark alkalisch war, und obgleich die Reaktion in den gifthaltigen Proben günstiger ist als in den Kontrollen, Hemmung um 26%.

Es ergab sich also, daß auch in den Versuchen, die bei einer anfänglich alkalischen Reaktion angesetzt waren und bei denen, wenn eine Änderung der [H˙] eingetreten ist, diese die Reaktion nur günstiger gestalten konnte (vgl. besonders Vers. 12), in allen Fällen eine Hemmung der Fermentwirkung zu beobachten war.

Wir untersuchten weiterhin, ob auch das zerfallene Dichlordiäthylsulfid auf die Urease hemmend wirkt. In pufferfreien Lösungen ist das von vornherein anzunehmen wegen der starken Säurebildung. Wird aber die Säurewirkung ausgeschaltet, sei es durch Puffer, sei es dadurch, daß die entstandene Säure neutralisiert wird, so ist eine Hemmung nicht von vornherein zu erwarten, da das gebildete Neutralsalz ebensowenig hemmt wie Thiodiglykol.

Die Versuche sind so angelegt, daß in einem Teil derselben (Versuch 13, Tabelle 25, Nr. 14—21) 1 ccm alkoholische Giftlösung, $^1/_2$ Tropfen Dichlordiäthylsulfid enthaltend, zu 7 ccm dest. Wasser, in einem anderen Teil (Nr. 22—25) ebensoviel

Gift in 6 ccm neutrale Phosphatmischung + 1 ccm dest. Wasser gegeben wurde. Alle diese Versuche blieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Ein Teil der pufferfreien Lösungen wurde nunmehr gegen Neutralrot mit 0,01 n NaOH-Lösung neutralisiert (Nr. 18—21). Von jeder Kategorie wurde die [H˙] elektrometrisch bestimmt, je 1 ccm 2proz. Urease und 1 ccm 2proz. Harnstoff zugefügt. Nach 2 Stunden wurden die Versuche unterbrochen, nachdem wieder in je einem Glase die [H˙] gemessen worden war. Zur Kontrolle wurden mit derselben Fermentlösung und derselben Giftmenge Versuche angesetzt, bei denen alle Teile zu gleicher Zeit gemischt wurden. Auch bei diesen Versuchen wurde die Reaktion gemessen (Nr. 1—13).

Tabelle XXV.

Nr.	Phosphat		Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift		p_H		Umsatz	
	ccm	p_H	ccm	ccm	ccm		ccm	vorher	nachher	mg N	relativ
1	—	—	7	1	1	Alkohol 90%	1		9,5		
2	—	—	7	1	1	"	1			5,63	90
3	—	—	7	1	1	"	1			5,65	
4	—	—	7	1	1	Dcls.	1		2,4		
5	—	—	7	1	1	"	1			0	0
6	—	—	7	1	1	"	1			0	
7	6	7,1	1	1	1	Alkohol 90%	1	7,22			
8	6		1	1	1	"	1		7,42		
9	6		1	1	1	"	1			6,30	100
10	6		1	1	1	"	1			6,28	
11	6		1	1	1	Dcls.	1		7,37		
12	6		1	1	1	"	1			5,20	79
13	6		1	1	1	"	1			4,91	
14	—	—	7	1	1	"	1	3,0			
15	—	—	7	1	1	"	1		2,6		
16	—	—	7	1	1	"	1			0	0
17	—	—	7	1	1	"	1			0	
18	—	—	7	1	1	"	1	7,25			
19	—	—	7	1	1	"	1		9,50		
20	—	—	7	1	1	"	1			3,97	63,5
21	—	—	7	1	1	"	1			4,11	
22	6	7,1	1	1	1	"	1	7,07			
23	6	—	1	1	1	"	1		7,30		
24	6	—	1	1	1	"	1			4,62	73
25	6	—	1	1	1	"	1			4,20	

Zu Nr. 18 wurden bis neutral gegen Neutralrot gegeben 11,6
" " 19 " " " " " " 11,7
" " 20 " " " " " " 12,2
" " 21 " " " " " " 12,2
n/100 NaOH

Tabelle XXVa.

Nr.	Phosphat		Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift		p_H		Umsatz	
	ccm	p_H	ccm	ccm	ccm		ccm	vorher	nachher	mg N	relativ
1	—	—	7	1	1	Alk. 90%	1		9,32		
2	—	—	7	1	1	"	1			5,12	100
3	—	—	7	1	1	"	1			5,35	
4	—	—	7	1	1	Dcls.	1		2,50		
5	—	—	7	1	1	"	1			0	0
6	—	—	7	1	1	"	1			0	0
7	6	6,95	1	1	1	Alk. 90%	1	7,22			
8	6	6,95	1	1	1	"	1		7,57		
9	6	6,95	1	1	1	"	1			5,1	100
10	6	6,95	1	1	1	"	1			5,46	
11	6	6,95	1	1	1	Dcls.	1		7,30		
12	6	6,95	1	1	1	"	1			4,03	63
13	6	6,95	1	1	1	"	1			3,67	
14	—	—	7	1	1	"	1	2,10			
15	—	—	7	1	1	"	1		2,10		
16	—	—	7	1	1	"	1			0	0
17	—	—	7	1	1	"	1			0	0
18	—	—	7	1	1	"	1	7,20			
19	—	—	7	1	1	"	1		9,30		
20	—	—	7	1	1	"	1			3,8	63
21	—	—	7	1	1	"	1			4,2	
22	6		1	1	1	"	1	7,10			
23	6		1	1	1	"	1		7,45		
24	6		1	1	1	"	1			4,0	63
25	6		1	1	1	"	1			4,1	

Zu Nr. 18 wurden bis neutral gegen Neutralrot gegeben 13,35 } n/100 NaOH
" " 19 " " " " " " 12,90
" " 20 " " " " " " 12,90
" " 21 " " " " " " 13,25

Tabelle XXVb.

Nr.	Phosphat 1/3 Mol 1pr.:2sek.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	1	1	1	Alk. 90%	—	1	5,3	57	100
2	6	1	1	1	Dcls.	1	1	3,9	42	74
3	6	1	1	1	"	1	1	3,8		
4	6	1	1	1	"	1	1	3,9		
5	6	1	1	1	Dcls. zers.	1	1	3,8		
6	6	1	1	1	"	1	1	3,8		
7	6	1	1	1	"	1	1	3,8		

In Tabelle XXV b, Nr. 5—7 stand die alkoholische Dcls.-Lösung 24 Stunden lang in der Phosphatlösung; dann wurde Harnstoff und Urease zugefügt. Unterbrechung nach 3 Stunden mit 20 ccm $^1/_{10}$ nHCl.

Aus den Versuchen ergibt sich folgendes:

1. In pufferfreier Lösung hemmt auch zersetztes Dichlordiäthylsulfid die Urease vollkommen (Nr. 16 und 17). Die stark saure Reaktion in diesen Proben gibt hierfür eine genügende Erklärung.

2. Wird die entstandene Säure neutralisiert, so kommt die Ureasewirkung wieder zur Geltung (Nr. 20 und 21), aber nicht in demselben Maße wie in giftfreier Lösung (Nr. 20 und 21 verglichen mit Nr. 9 und 10). Es bleibt eine Hemmung von rund 40%.

3. Wird durch die Puffer eine wesentliche Änderung der [H˙] verhindert, so ist auch bei völlig zersetztem Dichlordiäthylsulfid eine Hemmungswirkung zu beobachten, die von derselben Größenordnung ist wie die des unzersetzten Dichlordiäthylsulfids in pufferhaltiger Lösung (vgl. Nr. 24 und 25 mit Nr. 12 und 13 und mit Nr. 8 und 9).

Die letzten Versuche sprechen dafür, daß auch das zersetzte Dichlordiäthylsulfid eine von der Reaktionsänderung unabhängige Giftwirkung entfaltet. Da, wie oben festgestellt worden ist, das Thiodiglykol nicht giftig ist, so hat es den Anschein, als ob bei dem Zerfall von Dichlordiäthylsulfid neben dem Thiodiglykol noch (in geringen Mengen) eine auf das Ferment giftig wirkende Verbindung entstände.

V. Tetrachlordiäthylsulfid (Tcls.).

Ganz ähnliche Überlegungen wie für das Dichlordiäthylsulfid gelten auch für das Tetrachlordiäthylsulfid. Auch dieser Stoff spaltet in Wasser große Mengen Chlor ab, und es tritt eine erhebliche Säuerung der Lösung durch den Zerfall desselben ein. Infolgedessen ist auch eine starke Fermenthemmung zu erwarten. Der Versuch bestätigt dies.

Versuch 1 (Tabelle XXVI): Die Giftlösung enthält 1 Tropfen Tcls. in 1 ccm Alkohol. Die Versuchsanordnung ist dieselbe wie in früheren Versuchen. Kein Puffer. Unterbrechung nach 3 Stunden.

Tabelle XXVI.

Nr.	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			pH		Umsatz	
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%
1	7,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	7,2			
2	7,5	1	1	"	—	0,5		9,6		
3	7,5	1	1	"	—	0,5			8,4	} 90
4	7,5	1	1	"	—	0,5			8,4	
5	7,5	1	1	Tcls.	1/2	0,5		5,2		
6	7,5	1	1	"	1/2	0,5			0	0
7	7,5	1	1	"	1/2	0,5			0	0

Resultat: Wie erwartet, ist in der gifthaltigen Probe eine erhebliche Säuerung eingetreten (p_H 5,2 gegen 9,6 in den Kontrollen), dementsprechend eine völlige Hemmung des Fermentes. Die Messung der [H˙] der Lösung, die eine bräunliche Trübung aufwies, geschah kolorimetrisch unter den neuerdings von Michaelis angegebenen Vorsichtsmaßregeln.

Versuch 2 (Tabelle XXVII): Die folgenden Versuche sind wieder mit starken Phosphatpuffern von neutraler Reaktion versehen. Selbst wenn man annimmt, daß alles Cl als HCl abgespalten wird, so würden die Puffer dennoch ausreichen, um eine Verschiebung der Reaktion zu verhindern, denn zu jedem Versuch benutzten wir höchstens $^1/_2$ Tropfen Tcls. entsprechend einer Cl-Menge, wie sie noch etwa in 1 Tropfen Dcls. enthalten ist.

Tabelle XXVII.

Nr.	Phosphat $^1/_3$ Mol 1 pr. : 2 sek.	1% Urease	8% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	2	1	Alkohol 90%	—	1	3,2	23	100
2	6	2	1	"	—	1	3,2		
3	6	2	1	Tcls.	$^1/_2$	1	0	0	0
4	6	2	1	"	$^1/_2$	1	0	0	0

Tabelle XXVIIa.

Nr.	Phosphat $^1/_3$ Mol 1 pr. : 2 sek.	Dest. Wasser	1% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	0,5	2	1	Alkohol 90%	—	0,5	4,2	45	100
2	6	0,5	2	1	"	—	0,5	5,9	63	
3	6	0,5	2	1	Tcls.	$^1/_2$	0,5	0	0	0
4	6	0,5	2	1	"	$^1/_2$	0,5	0	0	

Versuch 4 (Tabelle XXVIII): In diesem Versuch wurde die [H˙] gemessen. In den Kontrollen ist die Reaktion etwas alkalisch geworden (p_H 7,53); in den gifthaltigen Proben ist eine Reaktionsänderung kaum bemerkbar (p_H 7,12).

Tabelle XXVIII.

Nr.	Phosphat p_H 6,9	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	7,22				
2	6	1,5	1	1	"	—	0,5		7,53			
3	6	1,5	1	1	"	—	0,5			8,5	90	100
4	6	1,5	1	1	"	—	0,5			8,4	89	
5	6	1,5	1	1	Tcls.	$^1/_2$	0,5		7,12			
6	6	1,5	1	1	"	$^1/_2$	0,5			0	0	0
7	6	1,5	1	1	"	$^1/_2$	0,5			0	0	

Alle drei Versuche lassen eine vollkommene Hemmung des Fermentes erkennen, die nicht durch eine ungünstige [H˙] bedingt sein kann.

Noch deutlicher wird dies in folgenden zwei Versuchen, bei denen so geringe Giftmengen zur Anwendung kommen, daß von einer irgendwie bemerkbaren Säuerung nicht die Rede sein kann.

Versuch 5 (Tabelle XXIX): Die Giftlösung enthält 1 Tropfen in 1 ccm Alkohol, davon werden 0,2 ccm, entsprechend $^1/_5$ Tropfen Substanz, benutzt.

Tabelle XXIX.

Nr.	Phosphat $^1/_3$ Mol 1:2	Dest. Wasser	1% Urease	8% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	4,5	2	1,5	—	—	—	6,0	64	100
2	6	4,5	2	1,5	Tcls.	$^1/_5$	0,2	0	0	0
3	6	4,5	2	1,5	„	$^1/_5$	0,2	0	0	

Versuch 6 (Tabelle XXX): Die Giftlösung ist so stark wie in Versuch 5. Zur Verwendung gelangen davon nur 0,1—0,05 ccm, entsprechend einer Giftmenge von $^1/_{10}$ bis $^1/_{20}$ Tropfen.

Tabelle XXX.

Nr.	Phosphat $^1/_3$ Mol 1 pr.:2 sek.	Dest. Wasser	2% Urease	1% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	0,5	2,5	1	—	—	—	3,6	38	100
2	6	0,5	2,5	1	—	—	—	3,2	34	
3	6	—	2,5	1	Tcls.	$^1/_{10}$	0,1	2,0	21	53
4	6	—	2,5	1	„	$^1/_{10}$	0,1	1,6	17	
5	6	—	2,5	1	„	$^1/_{20}$	0,05	2,0	21	
6	6	—	2,5	1	„	$^1/_{20}$	0,05	1,6	17	

Beide Versuche zeigen, daß auch noch sehr geringe Mengen Tetrachlordiäthylsulfid die Urease stark hemmen. $^1/_5$ Tropfen hat schon vollkommen gehemmt, $^1/_{10}$—$^1/_{20}$ Tropfen setzt den Umsatz um ca. 50% herab.

Versuch 7 (Tabelle XXXI): Ähnlich wie bei Dcls. haben wir auch hier einige Versuche bei alkalischer Reaktion angesetzt, um ganz sicher zu gehen, daß nicht die Säurewirkung allein die Fermenthemmung bewirkt.

Tabelle XXXI.

Nr.	Phosphat p_H 7,54	Dest. Wasser	2% Urease	2% Harnstoff	Gift			p_H		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	vorher	nachher	mg N	%	relativ
1	6	1,5	1	1	Alkohol 90%	—	0,5	7,62				
2	6	1,5	1	1	"	—	0,5		8,32			
3	6	1,5	1	1	"	—	0,5			8,7	92	100
4	6	1,5	1	1	"	—	0,5			8,9	94	
5	6	1,5	1	1	Tcls.	1/2	0,5		7,30			
6	6	1,5	1	1	Tcls.	1/2	0,5			0	0	0
7	6	1,5	1	1	Tcls.	1/2	0,5			0	0	0

Die Reaktion ist in den gifthaltigen Proben dem Optimum am nächsten; trotzdem hat das Tetrachlordiäthylsulfid vollkommen gehemmt.

Versuch 8 (Tabelle XXXII): Anordnung wie vorher.

Tabelle XXXII.

Nr.	Phosphat		Dest. Wasser	1% Urease	2% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	p_H	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	8,0	0,5	2	1	Alkohol 90%	—	0,5	3,5	37	100
2	6	8,2	0,5	2	1	"	—	0,5	3,5	37	
3	6	—	0,5	2	1	Tcls.	1/2	0,5	0	0	0
4	6	—	0,5	2	1	"	1/2	0,5	0	0	

Resultat: Vollkommene Hemmung.

Wir suchten noch die Frage zu beantworten, wie das größtenteils zersetzte Tetrachlordiäthylsulfid auf die Urease wirkt. Daß in pufferfreier Lösung vollkommene Hemmung zustande kommen muß, bedurfte keiner Untersuchung. Folgender Versuch (9) (Tabelle XXXIII) wurde deshalb in neutralem Phosphatpuffergemisch so angesetzt, daß von einer Giftlösung, die 1 Tropfen pro 1 ccm Alkohol enthielt, in einem Teil der Gläser 0,5—0,25 ccm in die Phosphatlösung gebracht wurde und so 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen blieb (Nr. 7—10). In dem anderen Teil der Gläser wurden die betreffenden Verbindungen in der üblichen Weise so gemischt, daß alle Teile zu gleicher Zeit zusammengegeben wurden. Nach 24 Stunden wurde auch in den 1. Teil (Nr. 7—10) Urease und Harnstoff gegeben.

Es stellte sich heraus, daß in dem Teile, der ohne Pause angesetzt war, wie zu erwarten, vollkommene Hemmung eingetreten

war; in dem anderen Teil aber war die Hemmung schwächer ausgefallen: das Tetrachlordiäthylsulfid hat also durch die Zersetzung an Giftigkeit eingebüßt. Da es nach unserer Voruntersuchung möglich ist, daß auch nach 24 Stunden noch nicht alles Tetrachlordiäthylsulfid zersetzt ist, so bleibt die Frage offen, ob die Giftigkeit des „zersetzten" Tetrachlordiäthylsulfids durch den noch vorhandenen Rest unzersetzten Giftes oder aber durch Zerfallsprodukte bedingt ist.

Tabelle XXXIII.

Nr.	Phosphat 1/2 Mol 1 pr.: 2 sek.	Dest. Wasser	2% Urease	8% Harnstoff	Gift			Umsatz		
	ccm	ccm	ccm	ccm		Tropfen	ccm	mg N	%	relativ
1	6	2,0	1	1	—	—	—	4,75	34	100
2	6	2,0	1	1	—	—	—	4,47	32	
3	6	1,5	1	1	Tcls.	1/2	0,5	0	0	0
4	6	1,5	1	1	"	1/2	0,5	0	0	0
5	6	1,75	1	1	"	1/4	0,25	0	0	0
6	6	1,75	1	1	"	1/4	0,25	0	0	0
7	6	1,5	1	1	Tcls. zersetzt	1/2	0,5	1,40	10	31
8	6	1,5	1	1	"	1/2	0,5	1,58	11	35
9	6	1,75	1	1	"	1/4	0,25	1,90	14	42
10	6	1,75	1	1	"	1/4	0,25	1,70	13	38

Zum Schluß teilen wir einen Übersichtsversuch mit, an dem alle untersuchten Stoffe beteiligt waren. Der Versuch zeigt noch einmal die Größenordnung der Hemmung, die durch die einzelnen Gifte bedingt wird, wenn die Hemmung durch Säure ausgeschlossen wird. Vgl. Tabelle XXXIV.

Tabelle XXXIV.

Nr.	Phosphat 1/2 Mol 1 pr.: 2 sek.	1% Urease	2% Harnstoff	Gift		Umsatz		
	ccm	ccm	ccm		ccm	mg N	%	relativ
1	6	2	1	Alkohol 90%	1	3,2	36	100
2	6	2	1	"	1	3,2		
3	6	2	1	Thiodiglykol	1	3,4	38	
4	6	2	1	"	1	3,6		
5	6	2	1	Thiodiglykolacetat	1	3,0	34	
6	6	2	1	"	1	3,3		
7	6	2	1	Dichlordiäthylsulfid	1	2,5	26	70
8	6	2	1	"	1	2,3		
9	6	2	1	Sulfon	1	2,1	22	63
10	6	2	1	"	1	2,1		
11	6	2	1	Tetrachlordiäthylsulfid	1	0	0	0
12	6	2	1	"	1	0		

Rückblickend läßt sich also folgendes feststellen. Der wichtigste Körper der untersuchten Gruppe, das Dichlordiäthylsulfid, hemmt die Urease weitaus in der Hauptsache durch Abspaltung von Säure. Aber auch wenn eine Reaktionsänderung verhindert wird, konnte eine deutliche und gut reproduzierbare Giftwirkung beobachtet werden, die nicht als Säurewirkung erklärt werden kann. Eine solche nicht von der Säurebildung herrührende Wirkung von derselben Größenordnung hat auch das Sulfon dieser Verbindung. Weitaus am giftigsten ist das Tetrachlordiäthylsulfid. Bei diesem Körper ist die Giftigkeit vollkommen unabhängig von der Säurebildung.

Zusammenfassung.

1. Die Beständigkeit einiger Derivate des Thiodiglykols gegen Wasser wurde mittels Leitfähigkeitsmessung untersucht.

2. Die Giftwirkung dieser Verbindungen auf Sojabohnen-Urease wurde untersucht, unter genauer Berücksichtigung der $H^{\cdot}$-Ionenkonzentration. Es wurde gefunden:

a) Thiodiglykol ist für Urease nicht giftig.

b) Auch das Acetat ist nicht giftig. Die $[H^{\cdot}]$ der Lösung wird von der Verbindung nicht beeinflußt.

c) Das Sulfon beeinflußt die Reaktion der Lösung nicht, ist aber dennoch in mäßigem Grade giftig.

d) Das Dichlordiäthylsulfid beeinflußt die $[H^{\cdot}]$ der Lösung durch Säurewirkung stark und hemmt das Ferment dadurch schon in geringen Mengen vollkommen. Aber auch wenn eine Reaktionsänderung verhindert wird, hemmt es die Urease, allerdings nur in geringem Maße.

e) Das Tetrachlordiäthylsulfid ändert die $[H^{\cdot}]$ der Lösung ebenfalls stark. Es hemmt die Urease schon in geringen Mengen, auch wenn eine Reaktionsänderung verhindert wird, vollkommen.

Beiträge zum Studium der Giftwirkung.

Über die Wirkung des Atoxyls auf Serumlipase.

Von

P. Rona und **E. Bach.**

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin).

(Eingegangen am 1. September 1920.)

Mit 11 Abbildungen im Text.

In der vorhergehenden Arbeit haben wir darauf hingewiesen, daß die Prüfung von Giftwirkungen auf fermentative Vorgänge bei passender Wahl des Fermentes und des Giftes geeignete Objekte für das Verfolgen quantitativer Verhältnisse zwischen Gift und Substrat liefern kann. Das Studium des Einflusses des Atoxyls auf die Serumlipase erweist sich als sehr geeignet zu diesem Zwecke. Benutzt wurde hierbei Kaninchen- und Katzenserum, in einigen Versuchen auch Meerschweinchen- und Menschenserum. Die einzelnen Tierarten verhielten sich jedoch — wie dies später ausführlicher erörtert werden wird — sehr verschieden. Meerschweinchenserumlipase ist gegen Atoxyl so wenig empfindlich, daß sie wenig geeignet für die gestellte Aufgabe ist; bei der Menschenlipase lag wiederum der Grenzwert der nicht mehr wirksamen und der der total hemmenden Giftmenge so nahe, daß nur wenig Spielraum bei der Variierung der Giftkonzentration möglich war. Bei Kaninchen- und Katzenserumlipase wirkte hingegen bereits eine äußerst geringe Atoxylkonzentration (z. B. 0,01 mg Atoxyl in 35 ccm Gesamtvolumen) stark hemmend auf die Fermentwirkung, trotzdem haben verhältnismäßig große Giftdosen (z. B. 10 mg Atoxyl in 35 ccm Gesamtvolumen) diese noch nicht ganz aufgehoben; da konnte die Giftkonzentration in weitem Bereich variiert und ihr Einfluß auf das Ferment untersucht werden.

Die Bestimmung der Lipasewirkung erfolgte stalagmometrisch nach Rona und Michaelis. Wir stellten eine 5—10fache Verdünnung des Serums mit destilliertem Wasser her. Zu 1—2 ccm dieses verdünnten Serums fügten wir wechselnde Mengen der Atoxyllösungen, dabei war die Atoxylkonzentration so hergestellt, daß die verschiedenen, den Sera zugefügten Giftmengen in 1—2 ccm Wasser gelöst waren. Nach Zufügung von 3 ccm Regulatorgemisch (1 Teil $^1/_3$ mol. primäres Phosphat, 10 Teile $^1/_3$ mol. sekund. Phosphat) blieben die Sera mit der Giftlösung 45—60 Minuten stehen. Das Gesamtvolumen des Gemisches Serum-Gift-Regulator betrug demnach 5—6 ccm; in einer und derselben Versuchsreihe waren die Volumina stets gleich. Nach 45—60 Minuten wurden 30 ccm einer stets frisch hergestellten gesättigten Tributyrinlösung zugefügt und sofort die Tropfenzahl bestimmt. Die Tropfenzählungen wurden dann je nach der Stärke des Fermentes nach 15, 30, 45, 60 usw. Minuten wiederholt. Um die vielen Zählungen zu erleichtern, ist es vorteilhaft (nach dem Vorschlag von Herrn Dr. Bien), unter der Tropfcapillare ein mit Linoleum bespanntes Brett, das mit Blaustift in Felder von ca. 2 qcm geteilt ist, vorbeizuziehen. Man erreicht leicht, daß in jedes Feld ein Tropfen zu liegen kommt; die Zahl der Tropfen kann mit einem Blick festgestellt werden.

I.

In den folgenden Versuchen (Versuch 1—11) waren die Fermentkonzentrationen innerhalb einer Versuchsreihe gleich, die Atoxylkonzentrationen verschieden. Die gewählten Giftkonzentrationen verhielten sich wie die Glieder einer geometrischen Reihe. Als Maß der Hemmung diente die Abnahme der Geschwindigkeitskonstante der Tributyrinspaltung.

In früheren Arbeiten konnte gezeigt werden, daß der Verlauf der Spaltung des Tributyrins durch die Lipase (Esterase) des Kaninchenserums sich praktisch mit genügender Genauigkeit durch die Formel einer monomolekularen Reaktion darstellen läßt. Auch in den vorliegenden Fällen zeigte sich zwischen 20—70% Umsatz eine gute Übereinstimmung der gefundenen mit den nach der monomolekularen Formel berechneten Werten. Bei der Katzenserumlipase verläuft die Spaltung bis ca. 70% Umsatz fast gerad-

linig, so daß wir anstatt der Gleichung $k = \frac{1}{n} \, l\, n \, \frac{a}{a - x}$ die Gleichung $k = \frac{x}{t}$ benutzen konnten. Nach früheren Untersuchungen[1]) sind bei gleichen Umsätzen die Fermentmengen den Zeiten indirekt proportional; das gilt auch für die Geschwindigkeitskonstanten. Diese können demnach als das Maß der Fermentwirkung benutzt werden. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Der Verlauf der einzelnen Versuche war der folgende.

Versuch 1 [Abb. 1[2])].

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	30′	60′	$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a - x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	24	12	0,048	0
2	0,012	1	100	46	18	0,026	0,46
3	0,025	2	100	55	26	0,021	0,56
4	0,050	4	100	63	37	0,016	0,67
5	0,10	8	100	72	46	0,012	0,75

Ferment: 3 ccm 5fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 39 ccm. $p_H = 7{,}55$ (elektrometrisch).

Versuch 2 (Abb. 2).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	30′	45′	60′	$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a - x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	29	22	15	0,041	0
2	0,025	1	100	53	38	24	0,021	0,49
3	0,050	2	100	57	44	30	0,019	0,54
4	0,10	4	100	62	48	36	0,016	0,61
5	0,20	8	100	70	55	42	0,013	0,68

Ferment: 3 ccm 5 fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 39 ccm. $p_H = 7{,}55$ (elektrometrisch).

[1]) Vgl. P. Rona, diese Zeitschr. **33**, 413 (1911) und P. Rona und J. Ebsen, diese Zeitschr. **39**, 21. 1912.

[2]) Auf der Ordinate sind die Geschwindigkeitskonstanten, auf der Abszisse die Logarithmen der Giftkonzentrationen aufgetragen, wobei als Einheit der Giftkonzentration die berechnete, eben nicht mehr wirksame Giftkonzentration C_0 genommen wird. Die experimentell bestimmten Punkte sind mit den Nummern des betreffenden Versuches versehen. Der Schnittpunkt der Linie, die die experimentell bestimmten Punkte verbindet, mit der Ordinate gibt die Geschwindigkeitskonstante k_0, d. h. die Geschwindigkeitskonstante der Fermentwirkung ohne Gift, der Schnittpunkt mit der Abszisse die eben vollkommen hemmende Giftkonzentration an.

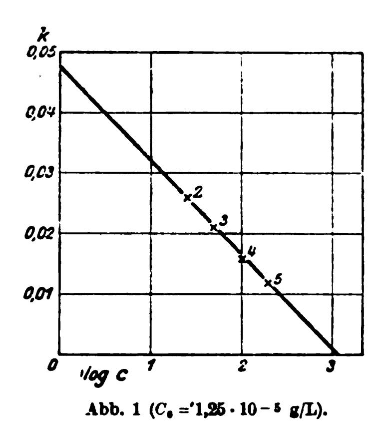


Abb. 1 (C_0 = 1,25 · 10⁻⁵ g/L).

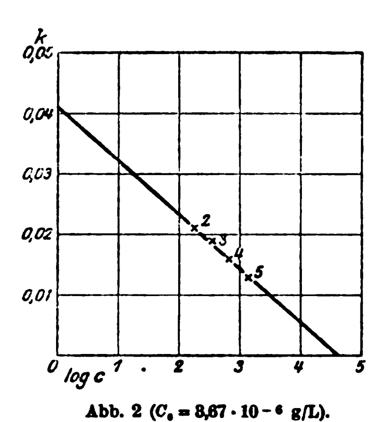


Abb. 2 (C_0 = 8,67 · 10⁻⁶ g/L).

Versuch 3 (Abb. 3).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	30′	60′	90′	$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	70	47	25	0,0116	0
2	0,012	1	100	79	62	47	0,0081	0,30
3	0,050	4	100	82	70	54	0,0065	0,45
4	0,20	16	100	88	76	62	0,0049	0,58
5	0,80	64	100	94	82	73	0,0034	0,71

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 36 ccm. $p_H = 7{,}52$ (elektrometrisch).

Versuch 4 (Abb. 4).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	60′	90′	120′	$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	70	58	46	0,0061	0
2	0,01	1	100	75	64	54	0,0048	0,21
3	0,02	2	100	78	66	58	0,0044	0,28
4	0,05	5	100	—	72	63	0,0038	0,38
5	0,10	10	100	—	75	65	0,0034	0,44
6	0,20	20	100	—	78	67	0,0030	0,51
7	0,50	50	100	—	81	72	0,0025	0,58
8	1,0	100	100	—	84	78	0,0020	0,67

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 36 ccm. p_H (elektrometrisch) = 7,52.

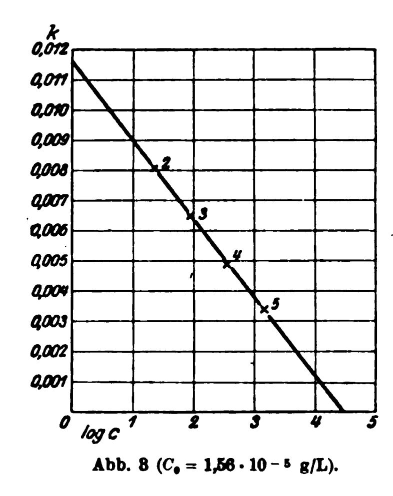


Abb. 3 (C_0 = 1,56 · 10⁻⁵ g/L).

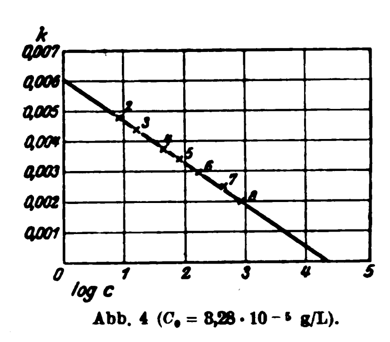


Abb. 4 (C_0 = 3,28 · 10⁻⁵ g/L).

Versuch 5 (Abb. 5).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	30′	60′	90′	$k = \frac{1}{0,4343\,t}\log\frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	66	41	21	0,0144	0
2	0,01	1	100	76	58	39	0,0096	0,33
3	0,10	10	100	82	66	49	0,0071	0,51
4	1,0	100	100	86	74	60	0,0052	0,64
5	10,0	1000	100	90	82	73	0,0034	0,76

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. p_H (elektrometrisch) = 7,74.

Versuch 6 (Abb. 6).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	30′	70′	120′	$k = \frac{1}{0,4343\,t}\log\frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	1	100	84	64[1])	54[1])	0,0062	0
2	0,010	0	100	84	67	52	0,0057	0,08
3	0,025	2,5	100	92	75	65	0,0039	0,37
4	0,050	5	100	96	84	75	0,0025	0,60
5	0,10	10	100	100	96	92	0,0007	0,89
6	0,50	50	100	100	100	100	0	1,00

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Menschenserum. Gesamtvolumen 36 ccm. p_H = 7,52 (elektrometrisch).

[1]) Diese Werte sind nach 60′ und 100′ bestimmt.

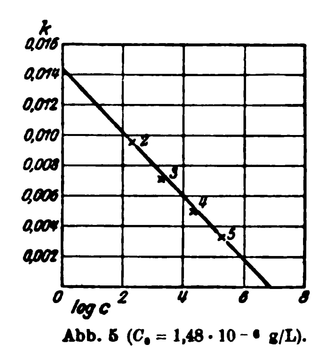


Abb. 5 ($C_0 = 1,48 \cdot 10^{-6}$ g/L).

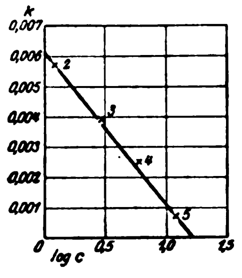


Abb. 6 ($C_0 = 2,21 \cdot 10^{-4}$ g/L).

Versuch 7 (Abb. 7).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	10′	20′	30′	$k = \frac{1}{0,4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	70	51	35	0,035	0
2	0,0078	1	100	70	51	35	0,035	0
3	0,0158	2	100	74	55	40	0,030	0,14
4	0,0312	4	100	81	62	51	0,022	0,37
5	0,0625	8	100	88	74	64	0,014	0,60
6	0,125	16	—	—	88	81	0,007	0,80
7	0,250	32	—	100	100	96	0,001	0,97
8	0,500	64	—	100	100	100	0	1,00

Ferment: 1 ccm unverdünntes Menschenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,57$ (elektrometrisch).

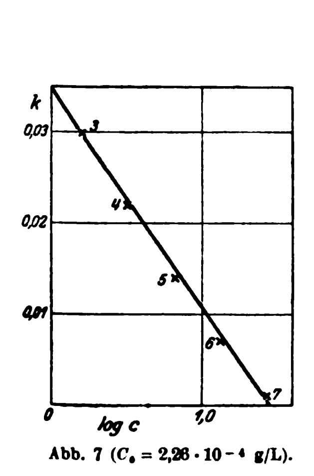


Abb. 7 ($C_0 = 2,26 \cdot 10^{-4}$ g/L).

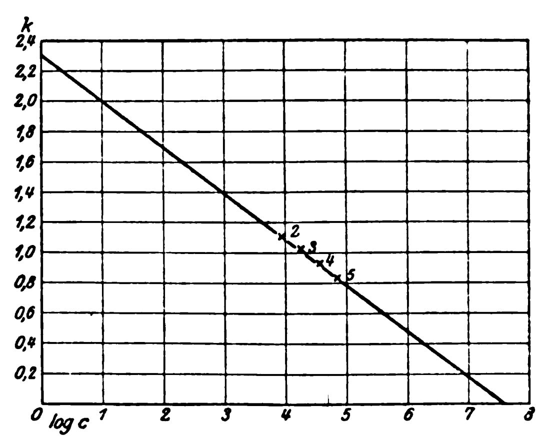


Abb. 8 ($C_0 = 1,50 \cdot 10^{-8}$ g/L).

Versuch 8 (Abb. 8).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach			$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′		
1	0	0	100	31	(20)	2,30	0
2	0,005	1	100	68	31	1,11	0,52
3	0,010	2	100	70	37	1,02	0,56
4	0,020	4	100	73	42	0,93	0,60
5	0,040	8	100	76	47	0,84	0,63

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 36 ccm. $p_H = 7,69$ (elektrometrisch).

Versuch 9 (Abb. 9).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	15′	30′	45′		
1	0	0	100	52	25	—	3,20	0
2	0,001	1	100	65	37	—	2,20	0,31
3	0,01	10	100	73	50	—	1,74	0,46
4	0,10	100	100	80	59	35	1,38	0,57
5	1,0	1000	100	86	73	61	0,89	0,72
6	10,0	10000	100	94	90	82	0,38	0,88

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35,5 ccm. $p_H = 7,69$ (elektrometrisch).

Versuch 10 (Abb. 10).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach			$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′		
1	0	0	100	55	23	1,50	0
(2	0,0001	1	100	57	25	1,43	0,05)
3	0,001	10	100	65	32	1,15	0,23
4	0,01	100	100	71	43	0,96	0,36
5	0,1	1000	100	76	51	0,81	0,46
6	1,0	10000	100	81	61	0,66	0,56
7	10,0	100000	100	86	73	0,46	0,69

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,77$ (elektrometrisch).

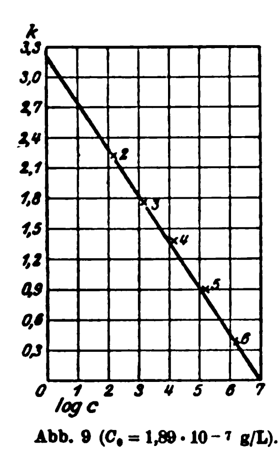


Abb. 9 (C_0 = 1,89 · 10 − 7 g/L).

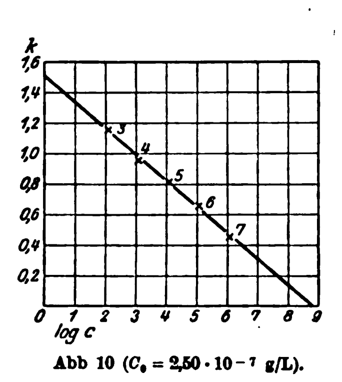


Abb 10 (C_0 = 2,50 · 10 − 7 g/L).

Versuch 11 (Abb. 11).

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach 0′	15′	30′	45′	60′	$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	79	64	45	—	1,27	0
2	0,001	1	100	—	73	58	45	0,91	0,28
3	0,01	10	100	—	76	64	51	0,81	0,36
4	1,0	100	100	—	79	68	55	0,72	0,43
5	10,0	1000	100	—	82	70	60	0,65	0,49

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,74$ (elektrometrisch).

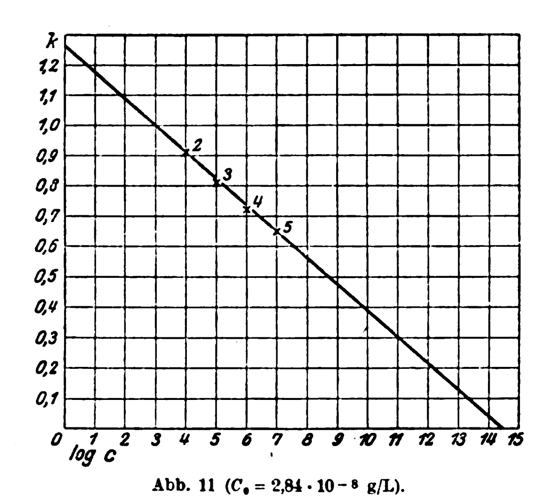


Abb. 11 (C_0 = 2,84 · 10 − 8 g/L).

In den Versuchen 12—16 sind die Parallelversuche (a, b usw.) je mit demselben Serum und unter den gleichen Versuchsbedingungen angestellt worden. Nur die Fermentkonzentration variierte.

Versuch 12a.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	15′	30′	45′		
1	0	0	100	54	—	—	3,06	0
2	0,001	1	100	69	42	22	1,99	0,35
3	0,1	100	100	78	58	36	1,43	0,53
4	10,0	10000	100	85	69	59	0,98	0,68

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,75$ (elektrometrisch).

Versuch 12b.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′		
1	0	0	100	58	—	—	1,40	0
2	0,001	1	100	72	44	—	0,93	0,34
3	0,1	100	100	78	58	36	0,71	0,49
4	10,0	10000	100	85	69	59	0,42	0,70

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,75$ (elektrometrisch).

Versuch 12c.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′		
1	0	0	100	75	58	38	0,74	0
2	0,001	1	100	85	66	50	0,53	0,28
3	0,1	100	100	88	75	62	0,41	0,45
4	10,0	10000	100	96	88	78	0,22	0,70

Ferment: 1 ccm 20fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,75$ (elektrometrisch).

Versuch 13a.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach			$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	45′		
1	0	0	100	65	48	1,17	0
2	0,001	1	100	77	67	0,79	0,32
3	0,1	100	100	83	77	0,54	0,54

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}62$ (elektrometrisch).

Versuch 13b.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach			$k = \frac{x}{t}$	$h = \frac{k_0 - k}{k^0}$
			0′	60′	90′		
1	0	0	100	65	44	0,59	0
2	0,001	1	100	77	60	0,41	0,31
3	0,1	100	100	83	73	0,29	0,51

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Katzenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}62$ (elektrometrisch).

Versuch 14a.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach					$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′	120′		
1	0	0	100	72	58	44	29	0,0099	0
2	0,001	1	100	77	64	50	35	0,0082	0,17
3	0,01	10	100	85	72	61	48	0,0056	0,43
4	0,1	100	100	—	85	72	66	0,0032	0,67

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}55$ (elektrometrisch).

Versuch 14b.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach					$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′	120′		
1	0	0	100	85	75	66	55	0,0049	0
2	0,001	1	100	89	81	72	61	0,0038	0,20
3	0,01	10	100	92	89	77	72	0,0027	0,45
4	0,1	100	100	96	92	85	81	0,0016	0,67

Ferment: 1 ccm 20fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}55$ (elektrometrisch).

Versuch 15a.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{1}{0,4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′		
1	C	0	100	70	48	33	0,0121	0
2	0,00001	1	100	70	48	33	0,0121	0
3	0,001	100	100	77	55	37	0,0105	0,13
4	0,1	10 000	100	83	70	55	0,0063	0,48
5	10,0	1000000	(100	95	90	87	0,0017	0,86)

Ferment: 1 ccm 5fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}62$ (elektrometrisch).

Versuch 15b.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach				$k = \frac{1}{0,4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	30′	60′	90′		
1	0	0	100	83	70	58	0,0061	0
2	0,00001	1	100	83	70	58	0,0061	0
3	0,001	100	100	83	73	63	0,0055	0,10
4	0,1	10 000	100	90	80	73	0,0034	0,44
5	10,0	1000000	(100	190	95	90	0,0010	0,84)

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}62$ (elektrometrisch).

Versuch 16a.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhandenes Tributyrin nach					$k = \frac{1}{0,4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
			0′	60′	120′	180′	240′		
1	0	0	100	89	81	74	62	0,0019	0
2	0,0001	1	100	89	81	74	62	0,0019	0
3	0,001	10	100	—	85	77	67	0,0015	0,21
4	0,01	100	100	—	89	81	74	0,0011	0,42
5	0,1	1000	1'0	—	92	89	81	0,0007	0,63
6	1,0	10000	100	—	96	96	92	0,0003	0,84

Ferment: 1 ccm 25fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7{,}32$ (elektrometrisch).

Wie aus diesen Tabellen ersichtlich, besteht zwischen Fermentwirkung und Giftkonzentration eine leicht übersehbare gesetzmäßige Beziehung. Nehmen wir in den einzelnen Versuchen die Verhältnisse der Giftmengen (bzw. da in jeder Versuchsreihe die Volumina gleich waren, der Giftkonzentrationen), die eine geo-

Versuch 16b.

Nr.	Atoxyl in mg	Relative Giftkonzentration	Vorhendenes Tributyrin nach 0′	30′	60′	90′	$k = \frac{1}{0,4343\,t}\log\frac{a}{a-x}$	$h = \frac{k_0 - k}{k_0}$
1	0	0	100	85	74	53	0,0052	0
2	0,0001	1	100	89	74	53	0,0051	0
3	0,001	10	100	89	77	57	0,0043	0,17
4	0,01	100	100	92	85	67	0,0031	0,40
5	0,1	1000	100	—	89	77	0,0019	0,63
6	1,0	10000	100	—	96	92	0,0007	0,86

Ferment: 1 ccm 10fach verdünntes Kaninchenserum. Gesamtvolumen 35 ccm. $p_H = 7,32$ (elektrometrisch).

metrische Reihe bilden und die entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten, so erhalten wir folgende Zahlen:

	Verhältnis der Giftmenge	Geschwindigkeitskonstanten
Versuch 1	1 : 2 : 4 : 8	26, 21, 16, $12 \cdot 10^{-3}$
Versuch 2	1 : 2 : 4 : 8	21, 19, 16, $13 \cdot 10^{-3}$
Versuch 3	1 : 4 : 16 : 64	81, 65, 49, $34 \cdot 10^{-4}$
Versuch 4	1 : 2 : 5 : 10 : 20 : 50 : 100	48, 44, 38, 34, 30, 25, $20 \cdot 10^{-4}$
Versuch 5	1 : 10 : 10^2 : 10^3	96, 71, 52, $34 \cdot 10^{-4}$
Versuch 6	1 : 2,5 : 5 : 10 : 50	62, 57, 39, 25, $0,7 \cdot 10^{-4}$
Versuch 7	1 : 2 : 4 : 8 : 16 : 32 : 64	(35), 30, 22, 14, 07, $0,1 \cdot 10^{-3}$
Versuch 8	1 : 2 : 4 : 8	1,11, 1,02, 0,93, 0,84
Versuch 9	1 : 10 : 10^2 : 10^3 : 10^4	2,20, 1,74, 1,38, 0,89, 0,38
Versuch 10	1 : 10 : 10^2 : 10^3 : 10^4 : 10^5	(1,43), 1,15, 0,96, 0,81, 0,66, 0,46
Versuch 11	1 : 10 : 10^2 : 10^3	0,91, 0,81, 0,72, 0,65

Die Giftmengen A, B, C, D usw. verhalten sich in den Versuchen wie die Glieder einer geometrischen Reihe:

$$\frac{A}{B} = \frac{1}{n}, \quad \frac{A}{C} = \frac{1}{n^2}, \quad \frac{A}{D} = \frac{1}{n^3} \text{ usw.}$$

und $\log B - \log A = \log n$; $\log C - \log A = 2 \log n$;

$$\log D - \log A = 3 \log n \text{ usw.}$$

Die entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten zeigten eine arithmetische Abnahme:

$$k_A - k_B = d, \quad k_A - k_C = 2d, \quad k_A - k_D = 3d \text{ usw.}$$

Daraus folgt:

$$\frac{k_A - k_B}{\log B - \log A} = \frac{k_A - k_C}{\log C - \log A} = \frac{k_A - k_D}{\log D - \log A} \dots = \frac{d}{\log n} =$$

konst.

Das Verhältnis der Differenzen der Geschwindigkeitskonstanten und der Differenzen der Logarithmen der entsprechenden Giftkonzentrationen ist konstant.

$$\frac{k_A - k_B}{\log B - \log A} = \varkappa ,$$

$$k_A - k_B = \varkappa (\log B - \log A) , \qquad (1)$$

wo A und B die Giftkonzentrationen, k_A und k_B die entsprechenden Geschwindigkeitskonstanten bezeichnen. $\varkappa$ ist eine Konstante, deren Größe von der Stärke des Fermentes und von der Empfindlichkeit derselben gegen das Gift abhängig ist.

Zur Ermittlung von $\varkappa$ müssen zwei Geschwindigkeitskonstanten bei zwei verschiedenen Giftkonzentrationen bestimmt werden. Die bei verschiedenen Giftkonzentrationspaaren bestimmten Werte von $\varkappa$ zeigen, wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich, eine befriedigende Übereinstimmung.

1. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—8	2—4	2—5	3—4	8—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,0166	0,0166	0,0155	0,0166	0,0149	0,0133	0,0156

2. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—4	2—5	8—4	8—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,0082	0,0088	0,0099	0,0099	0,0099	0,0093

3. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	3—4	3—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,00266	0,00266	0,00260	0,00266	0,00257	0,00249	0,00260

4. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	2—6	2—7	2—8	3—4	3—5	3—6
$\varkappa$	0,0013	0,0014	0,0014	0,0014	0,0013	0,0014	0,0015	0,0014	0,0014

Ber. aus Nr.	3—7	3—8	4—5	4—6	4—7	4—8	5—6	5—7
$\varkappa$	0,0014	0,0014	0,0014	0,0013	0,0013	0,0018	0,0014	0,0018

Ber. aus Nr.	5—8	6—7	6—8	Mittelwert
$\varkappa$	0,0013	0,0014	0,0014	0,0014

5. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—8	2—4	2—5	8—4	3—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,0025	0,0022	0,0021	0,0019	0,0019	0,0018	0,0021

6. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	3—4	3—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,0045	0,0046	0,0050	0,0047	0,0053	0,0048

7. Versuch.

Ber. aus Nr.	3—4	3—5	3—6	3—7	4—5	4—6	4—7	5—6	Mittelwert
$\varkappa$	0,027	0,027	0,026	0,024	0,027	0,025	0,023	0,023	0,025

8. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	3—4	3—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30

9. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	2—6	3—5	3—6	4—5	4—6	5—6	Mittelwert
$\varkappa$	0,46	0,41	0,44	0,46	0,43	0,44	0,49	0,50	0,51	0,46

10. Versuch.

Ber. aus Nr.	3—4	3—5	3—6	3—7	4—5	4—6	4—7	5—6	5—7	6—7	Mittelwert
$\varkappa$	0,19	0.17	0,16	0,17	0,15	0,15	0,17	0,15	0,18	0,20	0,17

11. Versuch.

Ber. aus Nr.	2—3	2—4	2—5	3—4	3—5	4—5	Mittelwert
$\varkappa$	0,10	0,09	0,09	0,09	0,08	0,07	0,09

Die Konstante $\varkappa$ bedeutet diejenige Geschwindigkeitskonstante, die man erhält unter der Wirkung des zehnten Teiles der eben total hemmenden Giftmenge.

In diesem Falle ist $\log B - \log A = 1$ und $k_B = 0$, d. h. die Giftmenge ist so groß, daß sie vollständige Hemmung verursacht.

Mit Hilfe der Gleichung 1 läßt sich die eben total hemmende wie die eben nicht mehr hemmende Giftmenge berechnen. Bezeichnen wir die total hemmende Giftkonzentration mit C_t, so bekommt man, da $k_B = 0$

$$\log C_t = \frac{k_A}{\varkappa} + \log A\,. \tag{2}$$

Ist andererseits die dem Ferment zugefügte Giftmenge so gering, daß sie keine hemmende Wirkung mehr ausübt, so wird die Geschwindigkeitskonstante so groß sein wie die bei der Spaltung ohne Gift. Wird letztere mit K bezeichnet, die betreffende kleine Giftdose mit C_0 und $k_0 = K$, so erhält man

$$\log C_0 = \frac{k_A - \mathrm{K}}{\varkappa} + \log A\,. \tag{3}$$

Wählen wir für A die Einheit der Giftmenge, so vereinfachen sich die Gleichungen, indem das Glied log A wegfällt: B bedeutet dann in der Gleichung 1 die Giftkonzentration auf A als Einheit bezogen.

Mit Hilfe dieser Gleichungen können wir aus $\varkappa$ und einer Geschwindigkeitskonstante den Verlauf der Fermentspaltung bei einer beliebigen Giftkonzentration berechnen.

Als Beispiel diene die Versuchsreihe 3:

$k = \frac{1}{0{,}4343\,t} \log \frac{a}{a-x}$ gefunden	k berechnet aus Gleichung (1), $\varkappa = 0{,}0026$			
	aus Nr. 2 ($k_A = 0{,}0081$)	aus Nr. 3 ($k_A = 0{,}0065$)	aus Nr. 4 ($k_A = 0{,}0049$)	aus Nr. 5 ($k_A = 0{,}0034$)
0,0081	0,0081	0,0081	0,0080	0,0081
0,0065	0,0065	0,0065	0,0065	0,0065
0,0049	0,0050	0,0049	0,0049	0,0050
0,0034	0,0034	0,0034	0,0033	0,0034

Da eine sehr große Zunahme der Giftkonzentration nur eine geringe Abnahme der Geschwindigkeitskonstante (also eine geringe Hemmungszunahme) verursacht, wird man eine Übereinstimmung der berechneten und der experimentell gefundenen Werte für die total und die eben-hemmende Giftdosis nur der Größenordnung nach erwarten dürfen, wobei noch beachtet werden muß, daß beide Werte naturgemäß eine gewisse Breite besitzen müssen.

Nehmen wir z. B. die Versuchsreihe 5 (Kaninchenserum), so berechnet sich für $\log C_t$ (C_t = total hemmende Giftkonzentration) aus Versuchs-

Nr. 3, 4, 5, 6 bzw. 2,57, 2,38, 2,48, 2,62 im Mittel 2,525. Die größte Abweichung in Nr. 4 weicht 6% vom Mittelwert ab. Die entsprechenden Werte für C_t (in mg Gift für 35 ccm Gesamtvolumen) sind: 3,7, 2,4, 3,0, $4,2 \cdot 10^2$, im Mittel $3,4 \cdot 10^2$. Die größte Abweichung vom Mittelwert beträgt 30%.

In der Versuchsreihe 6 (Menschenserum) berechnet sich die total hemmende Giftkonzentration aus Versuchs-Nr. 2, 3, 4, 5 bzw. zu 0,14, 0,15, 0,13, 0,14 mg Gift für 36 ccm Gesamtvolumen; die eben nicht mehr wirkende Giftmenge hingegen zu 0,008, 0,009, 0,009, 0,008, im Mittel 0,0085 mg Gift für 36 ccm Gesamtvolumen. Die experimentelle Beobachtung ergab, daß eine Atoxylkonzentration von 0,01 mg auf 36 ccm eine sehr geringe Hemmung und 0,1 mg auf dieselbe Flüssigkeitsmenge eine fast vollständige Fermenthemmung (89% Hemmung) verursacht. Bei 0,5 mg Atoxyl haben wir nach 2 Stunden keine Spaltung festgestellt. Die gefundenen und die berechneten Werte zeigen demnach eine befriedigende Übereinstimmung.

II.

Bei der Untersuchung der hemmenden Wirkung des Atoxyls auf verschiedene Fermentmengen ist es von Vorteil, den Hemmungskoeffizienten (h) einzuführen:

$$h = \frac{k_0 - k}{k_0},$$

wobei k_0 die Geschwindigkeitskonstante ohne Gift bedeutet.

Seien die Geschwindigkeitskonstanten bei der Giftkonzentration A und B k_A und k_B, die Hemmungskoeffizienten h_A und h_B, so ist

$$h_A = \frac{k_0 - k_A}{k_0} \quad \text{und} \quad h_B = \frac{k_0 - k_B}{k_0},$$

woraus

$$h_A - h_B = \frac{k_B - k_A}{k_0}$$

und da

$$k_B - k_A = \varkappa(\log A - \log B)$$

so ist

$$h_A - h_B = \frac{\varkappa}{k_0}(\log A - \log B). \tag{4}$$

In den folgenden Versuchen 12—16 ist die Giftwirkung auf verschiedene Fermentmengen untersucht.

Im Versuch 12 wurden von einem und demselben Serum drei Verdünnungen dargestellt und die hemmende Wirkung von drei verschiedenen Giftkonzentrationen untersucht. Wie ersichtlich, sind die Hemmungskoeffizienten ($h \times 100$ = Hemmung in %) innerhalb des Versuchsfehlers gleich.

	5 fach verd. Katzen-serum	10 fach verd. Katzen-serum	20 fach verd. Katzen-serum
Hemmungskoeffiz. Giftkonzent. $2{,}8^{-5}$ ‰	0,35	0,34	0,28
„ „ $2{,}8^{-3}$ ‰	0,53	0,49	0,45
„ „ $2{,}8^{-1}$ ‰	0.68	0,70	0,70
Geschwindigkeitskonstante ohne Gift . .	3,06	1,40	0,74
$\varkappa$	0,25	0,13	0,077

Die Fermentmengen verhielten sich im Versuch wie 1 : 2 : 4; die Werte von $\varkappa$ verhalten sich nun wie die Fermentmengen bzw. die Geschwindigkeitskonstanten.

Denn wenn auf verschiedene Fermentmengen dieselben Giftkonzentrationen wirken, ist

$$h_A - h_B = \frac{\varkappa}{k_0}(\log A - \log B)$$

und

$$h'_A - h'_B = \frac{\varkappa'}{k'_0}(\log A - \log B)\,,$$

da aber

$$h_A = h'_A \quad \text{und} \quad h_B = h'_B\,,$$

ist

$$h_A - h_B = h'_A - h'_B$$

und daher

$$\frac{\varkappa}{k_0} = \frac{k'}{k'_0} \quad \text{und} \quad \frac{k_0}{k'_0} = \frac{\varkappa}{\varkappa'}\,.$$

Das Verhältnis von $\frac{\varkappa}{k_0}$ bei einem und demselben Ferment, aber in verschiedenen Konzentrationen ist demnach konstant. Mit Hilfe von $\frac{\varkappa}{k_0}$ können wir die Giftwirkung bei verschiedenen Gift- und Fermentkonzentrationen berechnen. Der Wert von $\frac{\varkappa}{k_0}$ hängt von der relativen Empfindlichkeit des Fermentes gegen das Gift ab (d. h. von der Empfindlichkeit gegen die Änderung der Giftkonzentration).

In den folgenden Tabellen sind die Hemmungskoeffizienten in den Versuchen 13—16 zusammengestellt.

Zu Versuch 13.

	5 fach verd. Katzenserum	10 fach verd. Katzenserum
Hemmungskoeffiz. bei Giftkonz. $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ ‰	0,32	0,31
„ „ „ $2{,}8 \cdot 10^{-3}$ ‰	0,54	0,51
Geschwindigkeitskonstante ohne Gift, k_0 . .	1,17	0,59
$\varkappa$	0,13	0,06
$\frac{\varkappa}{k_0}$	0,11	0,105

Zu Versuch 14.

	10 fach verd. Katzenserum	20 fach verd. Katzenserum
Hemmungskoeffiz. bei Giftkonz. $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ ‰	0,17	0,22
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ ‰	0,43	0,45
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-3}$ ‰	0,68	0,67
Geschwindigkeitskonstante ohne Gift, k_0 . .	0,0099	0,0049
$\varkappa$	0,0025	0,0011
$\frac{\varkappa}{k_0}$	0,252	0,224

Zu Versuch 15.

	5 fach verd. Kaninchenserum	10 fach verd. Kaninchenserum
Hemmungskoeffizient bei Giftkonzentr. $2{,}8 \cdot 10^{-7}$ ‰	0	0
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ ‰	0,13	0,10
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-3}$ ‰	0,48	0,44
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-1}$ ‰	0,86	0,84
Geschwindigkeitskonstante ohne Gift k_0	0,0121	0,061
$\varkappa$	0,0022	0,0011
$\frac{\varkappa}{k_0}$	0,18	0,18

Zu Versuch 16.

	10 fach verd. Kaninchenserum	25 fach verd. Kaninchenserum
Hemmungskoeffizient bei Giftkonzentr. $2{,}8 \cdot 10^{-6}$ ‰	0	(0,09)
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-5}$ ‰	0,17	0,21
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ ‰	0,40	0,42
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-3}$ ‰	0,63	0,63
" " " $2{,}8 \cdot 10^{-2}$ ‰	0,86	0,84
Geschwindigkeitskonstante ohne Gift k_0	0,0052	0,0019
$\varkappa$	0,0012	0,0004
$\frac{\varkappa}{k_0}$	0,23	0,21

Die Konstante $\frac{\varkappa}{k_0}$ ist unabhängig von dem absoluten Wert der Geschwindigkeitskonstanten; sie ist um so größer, je empfindlicher das Ferment gegen die Änderung der Giftkonzentration ist. Je kleiner der Wert von $\frac{\varkappa}{k_0}$ ist, desto größere Unterschiede der Giftkonzentration verursachen nachweisbare Hemmungszunahmen. Wie leicht ersichtlich, bedeutet $\frac{\varkappa}{k_0}$ die Zunahme des Hemmungs-

koeffizienten (der Hemmung), wenn die Giftkonzentration 10fach vergrößert wird.

Die Giftkonzentrationen C_0 bis C_t geben uns die Breite der Giftwirkung. Da bei der tödlichen Giftkonzentration (C_t) der Hemmungskoeffizient h_t gleich 1 wird (da $k_t = 0$ ist), bei der nicht mehr wirksamen Giftkonzentration $h_0 = 0$ ist, so erhält man aus Gleichung

$$h_t - h_0 = \frac{\varkappa}{k_0}(\log C_t - \log C_0)\,,$$

wenn man C_0, die eben nicht mehr wirksame Giftkonzentration gleich 1 setzt

$$\log C_t = \frac{k_0}{\varkappa}\,.$$

Der reziproke Wert der Konstante $\frac{\varkappa}{k_0}$ gibt demnach die Breite der Giftwirkung[1]).

III.

Es muß weiterhin geprüft werden, wie die Werte der eben nicht mehr wirksamen, der total hemmenden Giftkonzentration, ferner von $\frac{\varkappa}{k_0}$ bei einem und demselben Tier zu verschiedenen Zeiten, dann bei verschiedenen Individuen derselben Tierart, schließlich bei verschiedenen Tierarten sich verhalten.

Die folgende Tabelle enthält eine Reihe von Versuchen, in der das Verhalten dieser Werte bei einem und demselben Tier (Kaninchen) untersucht wurde.

Tag der Blut-entnahme	Versuchs-tag	$\frac{\varkappa}{k_0}$	C_0 (g/L)	C_t (g/L)
17. V.	17. V.	0,22	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$4{,}4 \cdot 10^{-1}$
	19. V.	0,23	$3{,}3 \cdot 10^{-5}$	$7{,}5 \cdot 10^{-1}$
2. VI.	2. VI.	0,23	$5{,}5 \cdot 10^{-6}$	$7 \cdot 10^{-2}$
17. VI.	18. VI.	0,25	$5{,}3 \cdot 10^{-6}$	$5{,}3 \cdot 10^{-2}$
	21. VI.	0,22	$1{,}3 \cdot 10^{-5}$	$5{,}2 \cdot 10^{-1}$
	23. VI.	0,25	$1{,}1 \cdot 10^{-5}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$
	25. VI.	0,19	$2{,}2 \cdot 10^{-6}$	$7{,}8 \cdot 10^{-1}$
23. VI.	23. VI.	0,20	$1{,}5 \cdot 10^{-6}$	$5{,}8 \cdot 10^{-1}$
	25. VI.	0,19	$3{,}5 \cdot 10^{-6}$	$7{,}4 \cdot 10^{-1}$
	29. VI.	0,21	$6 \cdot 10^{-6}$	$3{,}9 \cdot 10^{-1}$

[1]) Die Beziehung $C_t = 10^{\frac{k_0}{\varkappa}}$ läßt sich auch leicht aus den Abbildungen direkt ableiten.



Im allgemeinen konnten wir bei längerer Beobachtung der Fermentlösung, falls kein Fäulnisprozeß eintrat, eine wesentliche Änderung der Giftempfindlichkeit nicht beobachten. In den meisten Fällen änderte sich auch die Fermentaktivität nicht bedeutend; nur in zwei Fällen haben wir innerhalb kurzer Zeit eine größere Abnahme der Aktivität beobachtet:

Ferment: 5fach verdünntes Kaninchenserum.

Versuchs-tag	k_0	$\varkappa$	$\frac{\varkappa}{k_0}$	C_0 (g/L)	C_t (g/L)
17. V.	0,0116	0,0026	0,22	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$4{,}4 \cdot 10^{-1}$
19. V.	0,0061	0,0014	0,23	$3{,}3 \cdot 10^{-5}$	$7{,}5 \cdot 10^{-1}$

Ferment: 10fach verdünntes Meerschweinchenserum.

Versuchs-tag	k_0	$\varkappa$	$\frac{\varkappa}{k_0}$	C_0 (g/L)	C_t (g/L)
14. V.	0,0220	0,0030	0,14	$1{,}8 \cdot 10^{-2}$	$1{,}2 \cdot 10^{-5}$
15. V.	0,0103	0,0013	0,13	$0{,}8 \cdot 10^{-2}$	$6{,}8 \cdot 10^{-5}$

Obgleich die Fermentaktivität in diesen Fällen bis auf die Hälfte vermindert war, blieben die tödliche und nicht mehr wirksame Giftdosis, sowie $\frac{\varkappa}{k_0}$ gleich. Die Abschwächung der Fermentaktivität äußerte sich so, wie wenn die Fermentkonzentration verringert wäre.

In unseren Versuchen benutzten wir Kaninchen-, Katzen-, Meerschweinchen- und Menschenserum. Die verschiedenen Tierarten zeigten nun große Unterschiede in ihrer relativen Empfindlichkeit (Empfindlichkeit gegen Änderung der Giftwirkung) gegen das Gift, so daß die Konstante $\frac{\varkappa}{k_0}$ (deren Größe abhängt von der Hemmungszunahme mit der Zunahme der Giftkonzentration) bei den verschiedenen Tierarten sehr verschieden ist. Gewisse individuelle Unterschiede innerhalb einer und derselben Tierart sind zwar auch vorhanden, sind aber viel geringer.

Die folgende Zusammenstellung gibt ein übersichtliches Bild über die hier vorliegenden Verhältnisse:

Tierart	$\frac{x}{k_0}$	C_0 (g/L)	C_t (g/L)
Kanninchen	0,22	10^{-5}	$4{,}6 \cdot 10^{-1}$
"	0,31	$8 \cdot 10^{-5}$	$1{,}1 \cdot 10^{-1}$
"	0,33	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-2}$
Katze	0,13	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$	1,8
"	0,10	$2{,}6 \cdot 10^{-8}$	$2{,}5 \cdot 10^{-2}$
"	0,14	$2{,}8 \cdot 10^{-7}$	2,3
Meerschweinchen	0,13	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	—
Mensch	0,81	$2{,}2 \cdot 10^{-4}$	$3{,}9 \cdot 10^{-3}$
"	0,61	$1{,}7 \cdot 10^{-4}$	$7{,}3 \cdot 10^{-3}$
"	0,63	$2{,}1 \cdot 10^{-4}$	$7{,}6 \cdot 10^{-3}$

Die Werte von $\frac{x}{k_0}$ bewegen sich demnach

bei Kaninchen . . . . . . 0,22—0,33
„ Katze . . . . 0,10—0,14
„ Meerschweinchen . . . 0,13
„ Mensch . . . . 0,61—0,81

Nach diesen Befunden ist die Empfindlichkeit gegen die Konzentrationsänderungen des Giftes bei der Menschenserumlipase sehr groß, bei der Katzen- und Meerschweinchenserumlipase sehr klein, in der Mitte liegt die Kaninchenserumlipase. Dementsprechend stehen die Grenzwerte der total hemmenden und noch nicht wirksamen Giftkonzentrationen (C^t und C_0) bei der Lipase des Menschenserums sehr nahe, bei der Lipase des Katzen- und Meerschweinchenserums sehr weit voneinander. So wurde beim Menschen eine Giftkonzentration von $7-8 \cdot 10^{-3}$ g/L als tödlich, eine von $1-2 \cdot 10^{-4}$ g/L als unwirksam gefunden. Im Gegenteil hemmten bei der Katze schon sehr geringe Giftkonzentrationen (schon 10^{-7} g/l), und doch heben sehr große Giftdosen (mehrere ‰) die Fermentwirkung noch nicht auf. Eine verhältnismäßig große Resistenz gegen Atoxyl zeigt die Meerschweinchenserumlipase. Man wird schwerlich diese Unterschiede auf verschiedene Arten von Lipasen bei den verschiedenen Tierarten zurückführen. Viel eher ist anzunehmen, daß der Grund des verschiedenen Verhaltens in den entsprechenden Seren liegt, dessen Natur allerdings erst zu erforschen ist.

IV.

Bei den bisherigen Versuchen war die Anordnung so, daß die Sera (das Ferment) vor der Zufügung der Tributyrinlösung ca. 1 Stunde lang mit den Giftlösungen standen. In den folgenden

Versuchen haben wir gleiche Giftmengen auf gleiche Fermentmengen wirken lassen, aber die Reihenfolge des Zusammenbringens von Gift, Ferment, Substrat und auch die Wirkungsdauer des Giftes auf das Ferment werden variiert.

Versuch 17[1]).

Nr.		Vorhandenes Tributyrin nach				k	h
		0′	30′	60′	90′		
1	Serum + Tributyrin (ohne Gift) . .	100	74	54	41	0,0101	0
2	Tributyrin + Gift, dann Serum . .	100	77	61	50	0,0082	0,19
3	Tributyrin + Serum, dann Gift . .	100	77	61	50	0,0082	0,19
4	Serum + Gift, dann Tributyrin . .	100	85	69	58	0,0059	0,42
5	Serum + Gift, nach 30′ Tributyrin	100	92	89	81	0,0023	0,78
6	Serum + Gift, nach 60′ Tributyrin	100	(96)	89	81	0,0021	0,80

Versuch 18[1]).

Nr.		Vorhandenes Tributyrin nach				k	h
		0′	30′	60′	90′		
1	Serum + Tributyrin (ohne Gift) . .	100	73	52	—	0,0107	0
2	Tributyrin + Gift, dann Serum . .	100	77	60	50	0,0085	0,30
3	Tributyrin + Serum, dann Gift . .	100	77	60	48	0,0083	0,32
4	Serum + Gift, dann Tributyrin . .	100	—	73	60	0,0055	0,49
5	Serum + Gift, nach 60′ Tributyrin	100	—	83	77	0,0030	0,72

Versuch 19[1]).

Nr.		Vorhandenes Tributyrin nach				k	h
		0′	15′	30′	45′		
1	Serum + Tributyrin (ohne Gift) . .	100	61	43	—	0,031	0
2	Tributyrin + Gift, dann Serum . .	100	69	52	41	0,023	0,26
3	Serum + Gift, dann Tributyrin . .	100	—	67	55	0,013	0,58
4	Serum + Gift, nach 10′ Tributyrin	100	—	91	88	0,0033	0,89
5	Serum + Gift, nach 60′ Tributyrin	100	—	96	91	0,0017	0,94

Versuch 20[1]).

Nr.		Vorhandenes Tributyrin nach				k	h
		0′	15′	30′	45′		
1	Serum + Tributyrin (ohne Gift) . .	100	61	37	20	0,033	0
2	Tributyrin + Gift, dann Serum . . .	100	66	42	25	0,029	0,12
3	Serum + Gift, dann Tributyrin . . .	100	81	69	55	0,013	0,60
4	Serum + Gift, nach 30′ Tributyrin	100	—	92	85	0,003	0,91
5	Serum + Gift, nach 120′ Tributyrin	100	—	92	85	0,003	0,91

[1]) Angewendet wurde Kaninchenserum. Wo keine besondere Angabe ist, sind die einzelnen Bestandteile des Gemisches ohne Pause zusammengegeben worden.

Aus diesen Versuchen ist folgendes zu entnehmen:

1. Es macht keinen Unterschied, ob das Serum der Tributyrin-Giftmischung oder ob das Gift der Tributyrin-Serummischung zugefügt wird.

2. Die Hemmung ist größer, wenn das Tributyrin dem Serum-Giftgemisch zugefügt wird, als wenn das Tributyrin zuerst mit dem Serum vermischt und dann das Gift zugefügt wird.

3. Die Hemmung ist bedeutend größer, wenn das Tributyrin der Serum-Giftmischung zugefügt wird, nachdem diese Mischung eine Zeitlang gestanden hat, als wenn das Tributyrin der Serum-Giftmischung sofort zugefügt wird. Und zwar macht es keinen Unterschied, wenn das Tributyrin nach 30′ oder später der Serum-Giftmischung zugesetzt wird.

4. Es besteht ein großer Unterschied, ob das Tributyrin der Serum-Giftmischung, oder ob das Serum der Tributyrin-Giftmischung zugesetzt wird, und zwar ist im ersten Falle die Hemmung bedeutend stärker.

Die Versuche zeigen, daß die hemmende Wirkung des Atoxyls nicht sofort, sondern erst nach einer gewissen Zeit (15—30′) sich auf den endgültigen, höchsten Wert einstellt. Andererseits sieht man auch, daß, wenn das Atoxyl zuerst mit dem Tributyrin zusammengebracht wird, und erst dann mit dem Ferment, die hemmende Wirkung viel geringer ist, als wenn das Atoxyl gleich mit dem Ferment zusammenkommt. Man könnte annehmen, daß im letzteren Fall und bei dem sofortigen Zufügen von Tributyrin zu der Gift-Fermentmischung ein Teil des Atoxyls von der Fermentoberfläche durch das Tributyrin „verdrängt" würde; nach einem Stehen der Ferment-Giftmischung von 15—30 Minuten entstehen hingegen irreversible Änderungen am Ferment.

Zusammenfassung.

1. Die Giftwirkung des Atoxyls auf die Serumlipase verschiedener Tiere wurde quantitativ verfolgt.

2. Es ergab sich, daß bei der Zunahme der Giftkonzentration nach einer geometrischen Reihe die Geschwindigkeitskonstanten des fermentativen Prozesses nach einer arithmetischen Reihe abnehmen. Es besteht demnach die Beziehung $\frac{k_A - k_B}{\log B - \log A} = \text{konst.}$ ($\varkappa$), wo k_A und k_B die Geschwindigkeitskonstanten bei den Giftkonzentrationen A und B bedeuten.

3. Wirken auf verschiedene Fermentmengen dieselben Giftkonzentrationen, so sind die Hemmungskoeffizienten ($h_A = \frac{k_0 - k_A}{k_0}$, wo die k_0 die Geschwindigkeitskonstante ohne Gift, k_A die bei der Giftkonzentrationen A ist) gleich. Daraus folgt die Beziehung $\frac{x}{k_0}$ = konst. Der Wert dieser Konstanten hängt von der relativen Empfindlichkeit des Fermentes von dem Gift ab, d. h. von der Empfindlichkeit des Fermentes gegen die Änderung der Giftkonzentration.

4. Sowohl die absolute wie die relative Empfindlichkeit des Fermentes gegen das Gift ist bei den verschiedenen Tierarten verschieden.

5. Tributyrin übt eine „Schutzwirkung“ gegen die hemmende Wirkung des Atoxyl aus.

Berlin
Verlag von Julius Springer
1920

3. Wirken auf verschiedene Fermentmengen dieselben Giftkonzentrationen, so sind die Hemmungskoeffizienten ($h_A = \frac{k_0 - k_A}{k_0}$, wo die k_0 die Geschwindigkeitskonstante ohne Gift, k_A die bei der Giftkonzentrationen A ist) gleich. Daraus folgt die Beziehung $\frac{\varkappa}{k_0}$ = konst. Der Wert dieser Konstanten hängt von der relativen Empfindlichkeit des Fermentes von dem Gift ab, d. h. von der Empfindlichkeit des Fermentes gegen die Änderung der Giftkonzentration.

4. Sowohl die absolute wie die relative Empfindlichkeit des Fermentes gegen das Gift ist bei den verschiedenen Tierarten verschieden.

5. Tributyrin übt eine „Schutzwirkung" gegen die hemmende Wirkung des Atoxyl aus.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, **C. von Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **A. von Wassermann**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertundelfter Band

Viertes bis sechstes Heft

Ausgegeben am 25. November 1920



Berlin

Verlag von Julius Springer

1920



iochemische Zeitsc

in zwanglosen Heften, die in kurze
ngen; je sechs Hefte bilden einen
en Bandes beträgt M. 48.—. Die Bi
t durch jede Buchhandlung sowie d
Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

---

*Regel können Originalarbeiten nur Aufnah
als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden
ersehen und der Reihe nach veröffentlicht,
turen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen
dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche
höchstens 2 Druckseiten einnehmen.*

*kriptsendungen sind an den Redakteur,
Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, H*

*erfasser erhalten 60 Sonderabdrücke ihrer A
gegen Berechnung. Für den 16 seitigen D
M. 40.— gezahlt.*

Verlagsbuchhandlung J

Berlin W 9, Linkstra

Inhaltsverzeichnis.

Die Verteilung der Glucose zwischen Plasma und roten Blutkörperchen.

Zur Physiologie des Blutzuckers. IV.

Von

Rich. Ege.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 16. August 1920.)

Trotz zahlreicher, von einer Reihe von Forschern ausgeführter Versuche herrscht doch noch große Uneinigkeit über die Verteilung der Glucose im Blute.

Bevor ich zu einer systematischen Durchnahme der Literatur übergehe, werde ich zum Beweis dafür, auf wie unsicherer Grundlage unser gegenwärtiges Wissen beruht, Höbers Äußerung darüber anführen („Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe", 4. Aufl., S. 369; 1914).

„... Man findet z. B. zwar häufig die Blutkörperchen von Kaninchen leer von Zucker, in anderen Fällen enthalten sie nicht unerhebliche Mengen. Oder es kommt vor, daß die Blutkörperchen vom Menschen einmal gar keinen Zucker enthalten, obwohl sie in einem zuckerhaltigen Plasma schwimmen, oder es kommt auch das Umgekehrte vor, daß der Zuckergehalt innen über den außen überwiegt. Ferner ist bei einigen Glykämien relativ viel Zucker im Plasma, bei anderen relativ viel in den Körperchen. Kurz, man begegnet auf Schritt und Tritt bei diesem Nahrungsstoff Verhältnissen, welche vom Standpunkt einer einfachen Verteilung infolge Diffusion durch Membranen von verschiedener, aber wohl definierter Durchlässigkeit bis jetzt nicht zu verstehen sind."

Die älteste Untersuchung über den Glucosegehalt von Blutkörperchen stammt von Otto[1]), der zu beweisen sucht, daß die allgemeine Annahme, daß die Blutkörperchen zuckerfrei sind, richtig ist. Sind die Blutkörperchen zuckerfrei, so muß man Hoppe-Seylers Methode zur Bestimmung des Blutkörperchenvolumens modifizieren können.

Die Methode erfordert nur eine quantitative Bestimmung irgendeines Stoffes — der nicht in den Blutkörperchen vorhanden ist — in einer Plasma- und einer Gesamtblutprobe.

---

[1]) Virchows Archiv 12.

Bestimmt man den Glucoseprozentsatz im Plasma und Gesamtblut, so muß man daraus einen Wert des Volumens der Blutkörperchen berechnen können, der mit dem durch die Fibrinmethode erhaltenen Wert übereinstimmt, unter der Voraussetzung, daß die Glucose tatsächlich in den Blutkörperchen nicht vorhanden ist.

Eine Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden ist ein Beweis dessen, daß in den Blutkörperchen kein Zucker vorhanden ist. Otto hat 2 Versuche mit Pferdeblut ausgeführt und findet eine schöne Übereinstimmung zwischen dem aus dem Fibrinprozentsatz in Blut und Serum und dem aus dem Glucoseprozentsatz in Blut und Serum berechneten Blutkörperchenvolumen. Die Blutkörperchen des Pferdes enthalten also keine Glucose.

Wenn eine Reihe von grundlegenden Untersuchungen über die Permeabilität der Blutkörperchen von Gryns, Hedin, Koeppe und Hamburger auch anscheinend durchaus widerspruchslos (wenn auch indirekt) dargetan zu haben scheinen, daß die Glucose nicht in die Blutkörperchen hineinzudringen vermag, so scheint es mir doch leichtsinnig, wenn spätere Untersucher — Lyttkens und Sandgren — die Blutkörperchen zu wiederholten Malen mit 0,9 proz. NaCl-Lösung waschen, um anhängendes Plasma zu entfernen, bevor sie zu der quantitativen Bestimmung der Glucose in den Blutkörperchen übergehen. Die Frage von dem Glucosegehalt der Blutkörperchen hängt jedoch so innig mit der Frage von ihrer Permeabilität gegenüber Glucose zusammen, daß es kaum als zulässig bezeichnet werden kann, davon auszugehen, daß der etwaige Zuckergehalt der Blutkörperchen von dem wiederholten Waschen unberührt bleibt.

Gegen die erste Arbeit von Rona und Michaelis[1]) muß man denselben Einwand erheben, gegen die nächste Arbeit[2]) ist einzuwenden, daß sie keine Bestimmung des Blutkörperchenvolumens enthält. Die Unsicherheit dieser Arbeit ist behoben worden in einer Arbeit von Rona und Takahashi[3]), indem hier mit dem Hämatokrit quantitative Volumenbestimmungen unternommen worden sind. Die Resultate stimmen im großen und ganzen mit denen von Rona und Michaelis überein.

Von interessierenden Versuchen führe ich folgende an:

Hund	Glucosekonzentration in		$\frac{B}{P}$[4])
	Plasma	Blutkörperchen	
1. Probe	0,158	0,157	99,4
45 Min. später	0,203	0,155	76,5
$1^1/_2$ Std. später	0,393	0,04	1,0

Bei der Katze betrug $\frac{B}{P}$ von 4—144%.

Beim Kaninchen „ „ „ 0—39%.

[1]) Diese Zeitschr. 16. 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 18. 1909.

[3]) Diese Zeitschr. 30. 1911.

[4]) $\frac{B}{P}$ ist das Verhältnis zwischen den Glucosekonzentrationen in Blutkörperchen und Plasma (oder Serum).

A. Hollinger[1]) findet durch Vergleich zwischen der Blutzuckerkonzentration im Gesamtblut und Plasma bei Menschen, daß die Glucose sich auch in den Blutkörperchen findet, bald in etwas größerer, bald in etwas kleinerer Menge als im Plasma — unter normalen Verhältnissen — in der Regel in identischen Mengen. Lyttkens und Sandgren[2]) finden, daß gewaschene Blutkörperchen (Kaninchen) bedeutende Mengen von reduzierender Substanz enthalten (Bangs Hydroxylaminmethode); aber die Reduktion verschwindet nicht bei der Vergärung. Die Blutkörperchen enthalten also keine Glucose. Daß die Glucose nicht herausdiffundiert sein kann, läßt sich aus dem Umstand schließen, daß der Zuckergehalt in Serum + Spülwasser dem Zuckergehalt im Serum gleich war. Von Menschenblutkörperchen gilt dasselbe (diese Zeitschr. 31; 1911). Frank[3]) findet in der Regel ein gleich starkes Reduktionsvermögen für Plasma und Gesamtblut sowohl beim Menschen als beim Hund. Ab und zu ist das Reduktionsvermögen sogar stärker im Gesamtblut, d. h. daß die Glucosekonzentration in der Regel im Plasma und in den Blutkörperchen gleich groß, mitunter jedoch in den Blutkörperchen größer ist. In anderen Fällen ist die Gesamtzuckerkonzentration um so viel geringer als die des Plasmas, daß das Blutkörperchen zuckerfrei gewesen sein muß. Das Reduktionsvermögen verschwand bei Vergärung. Ganz dasselbe, behaupten Frank und Bretschneider[4]), ist der Fall bei Kaninchenblut. Hier ist das Blutzuckervolumen bestimmt. Der Zuckerprozentsatz des Blutkörperchens kann daher quantitativ angegeben werden. In 2 von 8 Versuchen mit normalen Kaninchen ist $\frac{B}{P} = 0$, in 5 Versuchen ist das Verteilungsverhältnis bzw. 32, 79, 91 und 123% (2 Fälle), in 4 Versuchen mit Hyperglykämie 33% oder darunter. Entsprechende Resultate werden von Höber mitgeteilt (nach Versuchen von Felix Sperling); bei normalen Hunden schwankt $\frac{B}{P}$ von 97 bis zu 33, in Fällen von Hyperglykämie von 38 bis zu 0,0; bei (hyperglykämischen) Kaninchen schwankt der Quotient zwischen 110 und 8,7%.

Die Zuckerverteilung zwischen den Blutkörperchen und dem Plasma scheint also kein einfaches Gesetz zu befolgen — eine Spur von Gesetzmäßigkeit liegt doch vor, insofern Menschen- und Hundeblutkörperchen in den meisten Fällen und nach den meisten Untersuchern Glucose enthalten sollen, wohingegen die Glucose bei den übrigen Tieren oft fehlt, und wenn hier Glucose vorhanden ist, findet sie sich in der Regel in einer geringeren Konzentration als im Plasma; dies ist aber, wie bemerkt, nur ein in großen und groben Zügen zutreffendes Gesetz, von dem es zahlreiche Aus-

[1]) Diese Zeitschr. 17. 1909.
[2]) Diese Zeitschr. 26. 1910.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie 70. 1910—1911.
[4]) H. 76. 1911—1912.

nahmen gibt. Ebenso widerspruchsvoll sind die ersten Angaben über die Verteilung der Glucose, wenn diese dem Blut künstlich zugeführt wird.

Direkte Permebialitätsuntersuchungen von Rona und Michaelis[1]) haben gezeigt, daß die Glucose bei Zusatz außerhalb des Organismus nicht in Blutkörperchen von Schafen und Hunden einzudringen vermochte. Die Versuche sind jedoch absolut nicht eindeutig, was die Hundeblutkörperchen betrifft. Bei Katzen betrug $\frac{B}{P}$ von 4—114% und bei Kaninchen von 0,0—39%. Später haben Rona und Döblin[2]) zu zeigen versucht, daß die Blutkörperchen tatsächlich für Glucose permeabel sind (die Untersuchungen wurden mit Menschenblutkörperchen angestellt, aber Rona und Döblin verallgemeinern offenbar ihre Resultate). Die Zuckerkonzentration wird in dem ursprünglichen Blut (Gesamtblut und Plasma) bestimmt. Das Blutkörperchenvolumen wird mittels Hämatokrit bestimmt. Die Glucose wird polarimetrisch bestimmt. In dem ursprünglichen Blut betrug $\frac{B}{P}$ 91, 32 und 68%. Danach wird Glucose zugesetzt, 2 Min. später wird die Glucosekonzentration wieder bestimmt, und man fand nun folgende Verteilungsverhältnisse: 80, 59, 62, 66, 55. Entsprechende Verhältnisse galten merkwürdigerweise nicht von der Verteilung zwischen Blutkörperchen und Serum; die Menge Glucose, die hier primär in den Blutkörperchen vorhanden ist, ist viel kleiner (in 3 Fällen von 7 gleich 0,0), und das Verteilungsverhältnis ist nach Zusatz von Zucker in den meisten Fällen unter 33%.

Ebenso stark schwankende Resultate, wie Höber in betreff der Verteilung von Glucose in vivo fand, findet er auch nach Zusatz von Glucose zu Blutproben außerhalb des Organismus. Die Bestimmungen werden teils unmittelbar nach dem Zusatz, teils etwa 1/2 Std. später unternommen.

Kaninchen	Plasma	Blutkörperchen
Sofort	0,652	0,372
38 Min. später	0,712	0,000

Die Glucose ist also aus den Blutkörperchen ins Plasma, von der Stelle der niedrigeren Zuckerkonzentration bis zur Stelle der höheren hinausgedrungen.

Sich über diese zahlreichen — oft einander direkt widersprechenden — Resultate einen Überblick zu bilden, ist sehr schwer; entweder muß eine Reihe der obengenannten Bestimmungen irrtümlich sein, oder auch muß man behaupten, daß nicht nur zwischen den verschiedenen Tierarten ein Unterschied besteht in betreff der Durchlässigkeit des Blutkörperchenhäutchens

[1]) Diese Zeitschr. 18. 1909.
[2]) Diese Zeitschr. 31. 1912.

für Glucose, nein, dieselbe muß auch von Individuum zu Individuum schwanken. Aber wenn wir auch geneigt wären, eine so sonderbare Erklärung zu akzeptieren, so ist uns damit nicht viel geholfen; eine Reihe von Zahlen aus den Versuchen von Rona und Michaelis und deren Mitarbeitern zeigen, falls sie richtig sind, daß die Auswechslung von Zucker zwischen Blutkörperchen und Plasma sich nicht durch eine einfache physikalische Diffusion erklären läßt. Wenn Rona und Takahashi und Höber z. B. in kontinuierten Proben finden, daß die Blutzuckerkonzentration im Plasma steigt, in den Blutkörperchen fällt, so läßt dies sich nicht gut erklären ohne Annahme von aktiver Sekretion von Zucker seitens der Blutkörperchen. So sagt Höber[1]):

„Wir müssen daher schließen, daß die Blutkörperchen ihren Zuckergehalt von sich aus regeln, indem sie aktiv den Import bzw. Export besorgen", eine Annahme, die nur sehr schlecht mit unseren Kenntnissen von dem Säugetierblutkörperchen übereinstimmt.

Da hier indessen Versuche gegen Versuche stehen, glaube ich, daß es notwendig ist, neue Versuche anzustellen, bevor man so weitgreifende Konsequenzen zieht. Hier kommt es in erster Reihe darauf an, die Fehlerquellen zu vermeiden, mit denen frühere Versuche behaftet waren. Von solchen Fehlerquellen können wir anführen:

1. Ungenaue (oder fehlende) Bestimmung des Blutkörperchenvolumens.
2. Waschen der Blutkörperchen.
3. Die Glykolyse.
4. Unvollständige Kenntnis der Restreduktion oder Restdrehung bei der benutzten Methode.
5. Ungenauigkeiten bei der Zuckeranalyse selbst.

Die letzte von diesen Fehlerquellen ist sicherlich in vielen Fällen die wesentlichste. Der Zuckergehalt der Blutkörperchen wird von dem Zuckergehalt des Gesamtblutes und des Plasmas aus berechnet; der Fehler des Zuckergehalts der Blutkörperchen kann dabei ganz außerordentlich groß werden. Michaelis und Rona[2]) setzen den Fehler ihrer Polarisationsanalyse zu bis 10% von jeder einzelnen Bestimmung an — Lyttkens und Sandgren wollen sogar behaupten, daß er 20% beträgt[3]).

---

[1]) Diese Zeitschr. **45**. 1912.
[2]) Diese Zeitschr. **18**. 1909.
[3]) Diese Zeitschr. **31**. 1911.

Der Einfluß, den dies auf das endgültige Resultat ausübt, ist am leichtesten aus einem Beispiel zu ersehen. Wollen wir annehmen, daß nach Rona und Michaelis die Zuckerkonzentration im Plasma = 0,090%, im Gesamtblut = 0,090% wäre, so bedeutet dies, daß der Zuckerprozentsatz in den Blutkörperchen und im Plasma identisch ist; da die Bestimmungen bis um 10% verkehrt sein können, ist es möglich, daß die wahren Werte im Plasma = 0,10% und im Gesamtblut = 0,08% sind.

Ist das Blutkörperchenvolumen nun gering, z. B. 20%, so bedeuten diese Zahlen, daß die Blutkörperchen keinen Zucker enthalten. Mit anderen Worten, sind die Fehlergrenzen der Methode so groß, daß sich in einem Falle, wie dem obengenannten, nicht mit Sicherheit entscheiden läßt, inwiefern die Blutkörperchen und das Plasma gleich viel Glucose enthalten, oder ob das Plasma 0,100 und die Blutkörperchen 0,00 enthält.

Die besten und zahlreichsten Untersuchungen über die Glucoseverteilung zwischen Blutkörperchen und Plasma nach Zusatz von Glucose rühren von Masing[1]) her.

Einer von den Gründen dazu, daß Masings Versuchsresultate unter sich eine weit bessere Übereinstimmung zwischen den einzelnen Resultaten aufweisen, liegt meiner Meinung nach in seiner direkten Bestimmung des Zuckergehaltes der Blutkörperchen; statt diesen von der Zuckerkonzentration des Plasmas und des Gesamtblutes aus zu berechnen, bestimmt Masing den Zuckergehalt des Plasmas und einer soweit wie möglich plasmafreien Blutkörperchenmelasse, in welcher die Plasmamenge in der Regel bestimmt wird.

Eine Unsicherheit bergen dennoch Masings Bestimmungen in sich, indem seine Angaben über das Blutkörperchenvolumen auf Bleibtreus Methode, eine Methode, die ganz falsche Werte für das Blutkörperchenvolumen zu geben vermag[2]), beruhen; in den Versuchen, in denen er mit einer ungefähr plasmafreien Blutkörperchenmelasse arbeitete, hat dieses keine wesentliche Bedeutung.

Die Resultate von Masings Versuchen sind, daß die Blutkörperchen von folgenden Tieren für Glucose absolut impermeabel sind: Gans, Kaninchen, Schwein und Schaf[3]). Dagegen sind Rinder-, Hunde- und Men-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 156. 1914.

[2]) Rich. Ege, diese Zeitschr. 109. 1920.

[3]) Nur ein Versuch mit jeder Tierart.

schenblutkörperchen permeabel für Glucose; jedoch ist von keiner Ausgleichung der Zuckerkonzentration die Rede; bei Hund und Rind beträgt der Verteilungsquotient etwa 10%, bei Menschen etwa 70%; dieses Verhältnis ist jedoch nicht konstant; der Verteilungsquotient ist bei Menschen ein fallender bei steigender Zuckerkonzentration; während er bei Zuckerkonzentrationen von 0,2% in der äußeren Lösung 70% beträgt, macht er bei einer Zuckerkonzentration von 2% etwa 50% aus. Die Geschwindigkeit, mit der die Glucose in das Menschenblut hineindringt, ist nicht quantitativ bestimmt worden; jedoch wird sie bei 20° nach weniger als $^1/_2$—1 Std., bei 0° dagegen erst nach 18 Std. eingedrungen sein.

Behandelt man die Blutkörperchen mit Formol, so wird die Glucose sich so nahezu gleichmäßig zwischen Blutkörperchen und äußerer Flüssigkeit (Ringer) verteilen, daß der Unterschied innerhalb der Fehlergrenze liegt; dies gilt sowohl von den früher impermeablen Blutkörperchen (Gans) als von denen des Menschen.

Ähnliche Untersuchungen sind von Kozawa[1]) angestellt worden; er findet gleichfalls, daß der Zucker in Menschen- (und Affen-) Blutkörperchen eindringt, ohne daß jedoch ein Konzentrationsgleichgewicht erlangt wird. Das Verteilungsverhältnis von Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma ist bedeutend weniger konstant als nach Masings Befunden, nämlich 38, 37, 72, 86, 58, 72, 86, 86, 62, 39, 60, 60, sämtlich bei einer äußeren Konzentration von 0,6%.

Die Hundeblutkörperchen waren gleichfalls permeabel für Zucker — hier finden sich keine direkten Analysen für Glucose, für die übrigen einfachen Zuckerarten ein Verteilungsverhältnis von etwa 25%. Sämtliche Zuckeranalysen begannen 15 Min. nach dem Zuckerzusatz. Die Bestimmungen fanden nur statt im Plasma und Gesamtblut; die Zuckerkonzentration der Blutkörperchen wurde berechnet.

Die Blutkörperchen von Kaninchen, Schwein und Katze sind dagegen impermeabel für die einfachen Zuckerarten. Kozawas und namentlich Masings Untersuchungen haben in vielen Stücken unser Wissen von der Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Glucose bereichert, aber gleichzeitig erheben sich eine Reihe neuer Fragen, die ihrer Lösung harren.

1. Entsprechen die gefundenen Verteilungsverhältnisse, die nach Masing beim Menschen etwa 70%, beim Rind und Hund von 33 bis 10% betragen, einem tatsächlichen Gleichgewichtszustand?

2. Ist das Verteilungsverhältnis konstant, oder ist es, wie Masing behauptet, von der Zuckerkonzentration der äußeren Flüssigkeit abhängig?

---

[1]) Diese Zeitschr. **60**. 1914 und Journ. of physiol. **53**. 1919.

3. Gilt die Gesetzmäßigkeit, die **Masing** in betreff der Verteilung von zugesetztem Zucker findet, auch von der Verteilung der Glucose unter normalen Verhältnissen, oder sind die Analysen der früheren Untersucher richtig, nach denen anzunehmen war, daß die Blutkörperchen imstande sein müßten, ihren Zuckergehalt aktiv zu regulieren?

4. Wie ist die Zuckerverteilung zwischen Blutkörperchen und Plasma zu erklären?

Eigene Versuche.

Eine rein empirische Untersuchung über das Mengenverhältnis von Glucose in Plasma und Blutkörperchen ist an und für sich nur wenig befriedigend. Man wird unwillkürlich die Frage erheben: Was ist die Ursache dieser Verteilung und welchen Gesetzen unterliegt sie? Man darf aber natürlicherweise die beiden Fragen, die Verteilung der präformierten Glucose zwischen Blutkörperchen und Plasma und die Verteilung von zugesetzter Glucose, nicht voneinander trennen, wie die meisten früheren Untersucher getan haben; die ersten bestimmten nur die Verteilung der präformierten Glucose, **Masing** dagegen untersucht nur die Verteilung der zugesetzten Glucose. Eins von den wichtigsten Mitteln zur Klarlegung der Kräfte, welche für die Zuckerverteilung maßgebend sind, ist eben die Untersuchung des Verhaltens der zugesetzten Glucose, während man natürlicherweise die gefundenen Gesetze mittels der Verteilungsverhältnisse unter normalen Verhältnissen zu verifizieren suchen wird.

Wie ich früher bemerkt habe, muß man die Glucosekonzentration im Plasma und in einer Blutkörperchenbreimelasse (mit bekanntem Plasmagehalt) bestimmen; analysiert man außerdem das Gesamtblut, so erhält man eine Kontrolle von der Genauigkeit der Analysen. Erst später, nach der Anschaffung einer schnelllaufenden Zentrifuge wurde es möglich, durchaus plasmafreie Blutkörperchen für die Analyse zu gewinnen, wodurch die Sache natürlich ganz wesentlich vereinfacht wird.

Die Analysen wurden nach **Bangs** Mikromethode mit der von mir beschriebenen Modifikation ausgeführt. Da die Methode, wie aus einer früheren Arbeit hervorgeht[1]), nur eine ganz geringe Restreduktion ergibt, sind die Reduktionswerte, die man durch

[1]) Diese Zeitschr. **107**.

die Analysen findet, sehr nahezu ein Maß vom Inhalt des Blutes an einfachen vergärungsfähigen Kohlenhydraten.

In den folgenden Tabellen, in denen die Versuchsresultate angeführt sind, gibt die erste Kolonne die laufende Nummer, die zweite die Art des Blutes (defibriniert, Oxalat usw.), die dritte Zuckerzusatz oder keinen Zuckerzusatz sowie die Zeit zwischen dem Zuckerzusatz und der Trennung von Blutkörperchen und Blutflüssigkeit, die vierte den Blutkörperchenzuckerprozentsatz, die fünfte Plasma- oder Serumprozentsatz, die sechste den Zucker-

Tabelle I.

Die Zuckerverteilung zwischen Blutkörperchen und Blutflüssigkeit bei der Ziege.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
			Blutkörperchen	Plasma oder Serum	Gesamtblut, gefunden	Gesamtblut, berechnet	$\frac{B}{P}$	$\frac{B_1}{P_1}$
1	Def.	Ohne Zuckerzusatz	0,005	0,046	0,039	0,037	11,0	
2	—	Mit Zuckerzusatz 3 Stunden	0,002	0,084	0,064	0,066	2,4	÷ 8,0
3	—	Mit Zuckerzusatz 3 Stunden	0,016[1]	0,118	0,095		(13,6)	(15,3)
4	—	Mit Zuckerzusatz 3 Stunden	0,007	0,163	0,129	0,128	4,3	1,7
5	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,005	0,042	0,034	0,034	11,9	
6	—	Mit Zuckerzusatz 2 Stunden	0,002	0,123	0,091	0,097	1,6	÷ 4,0
7	—	Mit Zuckerzusatz 2 Stunden	0,004	0,144	0,121	0,114	2,8	÷ 1,0
5	—	Nach 24 Std. Stehenlassen	0,009	0,042				10,0
7	—	Nach 24 Std. Stehenlassen	0,007	0,144				2,0
8	Def.	Ohne Zuckerzusatz	0,007	0,067	0,059	0,057	12,7	
9	—	Mit Zuckerzusatz 1 Stunde	0,021	0,197			10,7	10,7
10	—	Mit Zuckerzusatz 1 Stunde	0,010	0,378	0,326	0,317	3,1	1,0
								M = 1,5 ± 6,0

[1] Berechnet.

Tabelle II.

Die Verteilung beim Rind.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
			Blutkörperchen	Blutflüssigkeit	Gesamtblut, gefunden	Gesamtblut, berechnet	$\frac{B}{P}$	$\frac{B_1}{P_1}$
1	Fluorid	Ohne Zuckerzusatz	0,023	0,081			28	
2		Mit Zuckerzusatz	0,024	0,205			11,7	0,8
		2 Stunden						
3		—	0,050	0,640			7,8	4,8
4	Def.	Ohne Zuckerzusatz	÷0,002	0,107			÷ 1,9	
5		Mit Zuckerzusatz	0,012	0,221			5,4	5,4
		3 Stunden						
6		—	0,027	0,650			4,2	4,2
7	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,020	0,077	0,065	0,058	26	
8		Mit Zuckerzusatz	0,024	0,203			11,8	3,2
		3 Stunden						
9		—	0,039	0,323			12,0	6,1
10		—	0,058	0,640			9,1	6,7
11		—	0.032	1,39			2,3	0,9
12	Def.	Ohne Zuckerzusatz	0,026	0,260			10	
13		Mit Zuckerzusatz	0,031	0,681			4,5	1,2
		2 Stunden						
14		—	0,027	0,640	gesättigt mit CO_2			
								M = 4,0 ± 0,8

prozentsatz im Totalblut, gefunden durch direkte Analyse, die siebente denselben berechnet, die achte das Verhältnis zwischen dem Zuckergehalt in den Blutkörperchen und in der Blutflüssigkeit, ausgedrückt in Prozent $\left(\frac{B}{P}\right)$, die neunte das Verhältnis zwischen der Zuckerzunahme in den Blutkörperchen und der Blutflüssigkeit an $\left(\frac{B_1}{P_1}\right)$.

Ein Blick auf die oben angeführten Tabellen wird genügen, um zu zeigen, daß die Zuckerverteilung beim Menschen ganz andere Gesetze befolgt als bei den anderen untersuchten Tieren.

Bei einer weiteren Behandlung der gewonnenen Resultate ist das Material daher in zwei Abteilungen zu teilen:

Tabelle III.

Die Verteilung beim Kaninchen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
			Blutkörperchen	Blutflüssigkeit	Gesamtblut, gefunden	Gesamtblut, berechnet	$\frac{B}{P}$	$\frac{B_1}{P_1}$
1	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,004	0,074	0,054[1]	0,055	5,4	
2		Mit Zuckerzusatz 2 Stunden	0,005	0,092	0,070	0,072	5,4	5,6
3		—	0,007	0,128	0,101	0,101	5,5	5,6
4		—	0,003	0,173	0,128	0,134	1,7	÷ 1,0
5	Def.[3])	Ohne Zuckerzusatz	0,027	0,095				
6		Mit Zuckerzusatz 6 Stunden	0,040	0,528				
7		—	0,027	0,478[2]	(0,1% mit Bezug auf KCl)			
8		—	0,038	0,467[3]	(0,1% mit Bezug auf $CaCl_2$)			
9	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,007	0,144	0,102	0,106	4,9	
10		Mit Zuckerzusatz 4 Stunden	0,008	0,186	0,132	0,136	4,3	2,4
11		—	0,003	0,196	0,159	0,151	1,5	÷ 7,7
								M = 1,0 ± 2,5

I. Verteilung bei den untersuchten Tieren (mit Ausnahme des Menschen).

II. Verteilung beim Menschen.

I. Die Glucoseverteilung ist hier untersucht worden bei Hund, Ziege, Rind und Kaninchen. Zwischen diesen Tierarten unter sich besteht kein wesentlicher Unterschied.

Der Zuckerprozentsatz wurde bestimmt in der Blutkörperchenmelasse und im Plasma, in einigen Versuchen außerdem im Gesamtblut; da man ja sowohl die Glucosekonzentration der Blutkörperchen als die des Plasmas kennt, kann der Zuckergehalt des

---

[1]) Der niedrige Zuckerprozentsatz beruht auf einer Beimischung von Ringerscher Lösung.

[2]) In 7 und 8 sollte dieselbe Zuckerkonzentration vorliegen wie in 6; wenn sie doch etwas davon abweicht, so beruht dies auf der Verdünnung mit bzw. 1 ccm 1 proz. KCl und $CaCl_2$ zu 10 ccm Blut 1 ccm Glucoselösung.

[3]) Nierenexstirpation 6 Tage vorher, Restreduktion nicht bestimmt.

Tabelle IV.

Die Verteilung beim Hund.

1	2	3	4	5	6	7	8	9.
			Blutkörperchen	Blutflüssigkeit	Gesamtblut, gefunden	Gesamtblut, berechnet	$\frac{B}{P}$	$\frac{B_1}{P_1}$
1	Defibr.	Ohne Zuckerzusatz	0,008	0,107	0,057	0,058	7,5	
2		—	0,027	0,082	0,065	0,065	3,3	
3		Mit Zuckerzusatz 24 Stunden	0,034[1])	0,118	0,093		(29)	(19)
4		—	0,030	0,164	0,127	0,127	18	3,7
5		—	0,032	0,164			20	6,1
6	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,046	0,074			62	
7		Mit Zuckerzusatz 6 Stunden	0,040	0,245			16	÷ 3,5
8	Defibr.	Ohne Zuckerzusatz	0,022	0,149	0,109	0,108	14	
9		Mit Zuckerzusatz 1 Stunde	0,024	0,438	0,307	0,316	5,5	0,7
10		—	0,029	0,672	0,513	0,492	4,3	1,3
11		—	0,026	1,25	0,940	0,950	2,6	0,0
12	Fluorid	Ohne Zuckerzusatz	0,034	0,100			34	
13	—	Mit Zuckerzusatz 6 Stunden	0,016[1])	0,144	0,094		(÷ 11)	(÷ 41)
14	—	—	0,045	0,375			12,6	4,3
15	—	—	0,030	1,16			2,7	0,0
16	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,040	0,202			20	
17		Mit Zuckerzusatz 3 Stunden	0,048	1,59			3	0,1
								M = 1,4 ± 1,0

Gesamtblutes auch berechnet werden, wodurch man eine Kontrolle für die Richtigkeit und Genauigkeit des Versuches erhält[2]). In einzelnen Versuchen ist die Blutkörperchenanalyse verlorengegangen; in diesen Fällen wurde der Wert berechnet; diesen Be-

[1]) Berechnet.

[2]) Die einzige Bestimmung, die ohne Kontrolle bleibt, ist das Blutkörperchenvolumen; wenn dieser Bestimmung auch ein gewisser systematischer sowie zufälliger Fehler anhaftete, so würde doch eine schöne Übereinstimmung zwischen dem gefundenen und dem berechneten Gesamtblut erzielt werden können.

Tabelle V.

Die Verteilung beim Menschen.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
			Blutkörperchen	Blutflüssigkeit	Gesamtblut, gefunden	Gesamtblut, berechnet	$\frac{B}{P}$	$\frac{B_1}{P_1}$
1	Fluorid	Ohne Zuckerzusatz	0,045	0,088	0,068	0,074	51	
2		—	0,068	0,091	0,074	0,086	75	
3		Mit Zuckerzusatz 1½ Stunde	0,135	0,195			69	63
4		—	0,160	0,316	0,249	0,249	51	41
5		—	0,330	0,693			48	44
6		—	1,15	2,31			50	49
7		—	1,58	3,50			45	44
8		Mit Zuckerzusatz 24 Stunden	0,073	0,090			81	
9		—	0,344	0,680			51	
10		Ohne Zuckerzusatz	0,094	0,126			75	
11		—	1,00	1,50			66	
12	Oxalat	Ohne Zuckerzusatz	0,056	0,078	0,066	0,066	72	
13		Mit Zuckerzusatz 2 Stunden	0,142	0,221	0,193	0,189	64	60
14		—	0,490	0,772	0,66	0,66	63	62
15		Ohne Zuckerzusatz	0,065	0,088			74	
16[1]		Ohne Zuckerzusatz	0,080[1]	0,112	0,090		71	
17		Mit Zuckerzusatz 3 Stunden	0,99	1,131	1,09		75	75

stimmungen kann jedoch nicht eine so große Bedeutung beigemessen werden wie den übrigen Bestimmungen.

Die zugesetzte Glucose wurde entweder, in NaCl gelöst, in einer solchen Menge zugesetzt, daß die Lösung mit 0,9 proz. NaCl isosmotisch ist, oder in abwechselnder Menge einer mit dem Blut isosmotischen Glucoselösung (5—6%).

Wenn es richtig ist, daß die Glykolyse vorzugsweise oder ausschließlich in den Blutkörperchen stattfindet, wird eine etwaige Glykolyse das wahre Verteilungsverhältnis vollständig verschleiern können; kurze Zeit nach Anfang der Zentrifugierung sind die Blutkörperchen einigermaßen vollständig daran verhindert,

[1]) Placentarblut.

einen etwaigen Zuckerverbrauch durch Diffusion von dem Plasma ausgeglichen zu erhalten, wenn das Häutchen auch für Glucose permeabel ist. Da oft über 1—2 Stunden vom Anfang der Zentrifugierung an bis zur Trennung von Blutkörperchen und Blutflüssigkeit nebst der darauffolgenden Fällung der Proteinstoffe und Hemmung sämtlicher enzymatischer Prozesse verstreichen, wird eine kräftige Glykolyse ein vollständiges Verschwinden des ganzen Zuckergehaltes des Blutkörperchens bewirkt haben und somit eine Impermeabilität für Glucose vorspiegeln können. Um sich auf das gefundene Verteilungsverhältnis verlassen zu können, muß man daher die Glykolyse verhindern.

Die ersten Versuche wurden daher angestellt mit Blut, zu dem Natriumfluorid ($2^0/_{00}$) oder Kaliumoxalat ($1^0/_{00}$) gesetzt worden war, durch welchen Zusatz die Glykolyse den allgemeinen Angaben gemäß gehemmt wird; nach meinen eigenen Versuchen kann man meiner Ansicht nach noch weiter gehen und behaupten, daß die Glykolyse in den meisten Fällen vollständig aufgehoben wird. Da es indessen möglich ist, daß die Zuckerverteilung in dem normalen Blut eine andere ist, wird man genötigt sein, auch in defibriniertem Blut Bestimmungen anzustellen. Um zu untersuchen, ob die Glykolyse in dem Falle so groß ist, daß sie auf die Resultate wird einwirken können, stellte ich ein paar Bestimmungen des Grades der Glykolyse in defibriniertem Blut bei Ziege und Hund bei gewöhnlicher Temperatur an.

Ziege:		Schwund pro Stunde
Die Zuckerkonzentration sofort	0,156%	
		0,6%
„ „ nach 1std. Stehen . .	0,155%	
		0,5%
„ „ „ 20 td. „ . . .	0,133%	
		0,5%
„ „ „ 44std. „ . . .	0,118%	

Hund:		
Die Zuckerkonzentration sofort	0,074%	
„ „ nach einem Stehen von 3 Std. und 15 Min.	0,068%	2,1%
„ „ nach einem Stehen von 20 Std. und 15 Min.	0,062%	0,8%

Versuch mit zugesetzter Glucose:

Die Zuckerkonzentration sofort	0,480%
„ „ nach einem Stehen von 3 Std. und 15 Min.	0,473%

Der Zuckerschwund beim Stehenlassen (Glykolyse?) ist nicht groß; da die verschwundene Menge dieselbe absolute Größe hat, ist der prozentische Zuckerschwund in den Versuchen mit zugesetztem Zucker noch geringer, in der Regel so gering, daß man davon absehen kann; dies wäre dagegen kaum geraten in Versuchen mit niedrigen Zuckerkonzentrationen. Ein Schwund von 2% des Gesamtblutzuckers pro Stunde wird einen Schwund von 6 des Blutkörperchenzuckerprozentsatzes ausmachen, falls das Volumen der Blutkörperchen 33% beträgt und die ganze Glykolyse in den Blutkörperchen stattfindet.

Da die Glykolyse den Zahlen anderer Verfasser gemäß bedeutend größer sein kann, namentlich bei den Tieren, deren Blutkörperchen Glucose enthalten, muß man besondere Maßregeln treffen, um die Glykolyse zu verhindern, wenn man mit defibriniertem Blut arbeitet.

Ich habe daher die Zentrifuge mit einem Mantel umgeben, in den eine Kältemischung getan wurde Bei kurzwieriger Zentrifugierung konnte die Temperatur auf 7—9° gehalten werden; da ich befürchtete, daß diese Temperatur nicht niedrig genug sei für eine effektive Herabsetzung der Glykolyse, würden die kleinen Zentrifugengläser, die das Blut enthielten, in größeren Gläsern angebracht, die darauf mit Eis gefüllt wurden.

Nach dem Zuckerzusatz blieben die Proben bei gewöhnlicher Temperatur stehen, aber von dem Augenblick an, wo die Abpipettierung stattfand, bis zu dem Augenblick, wo die Glykolyse durch Fällung der Proteinstoffe durch Kochen in der Salzlösung absolut verhindert war, standen die Proben auf Eis.

Von den Kolumnen der Tabellen haben $\frac{B}{P}$ und $\frac{B_1}{P_1}$ das meiste Interesse für uns und von ihnen vielleicht wiederum die letztere Größe, von welcher aus man sollte entscheiden können, ob die Glucose durch die Membrane des Blutkörperchens hineindringt oder nicht.

Ist die Membrane impermeabel, soll $\frac{B_1}{P_1} = 0$ sein, hat $\frac{B_1}{P_1}$ einen positiven Wert, so ist das Häutchen permeabel für Glucose.

Der Erklärung der Zuckerverteilung zwischen Blutkörperchen und Plasma ist die allgemeine Betrachtung der Blutkörperchen als Zellen zugrunde gelegt, die von einer Zellenmembran umgeben sind, welche für gewisse Stoffe permeabel, für andere Stoffe impermeabel ist. Inwiefern diese Auffassung berechtigt ist oder nicht, wird in einer späteren Publikation erörtert werden.

Die Größe $\frac{B_1}{P_1}$ ist nun bei diesen Tieren 0 oder sehr nahe zu 0.

Die mittlere Zahl der Kolumne $\frac{B_1}{P_1}$ ist allerdings positiv, aber vom Rinde abgesehen, ist sie kleiner als 2—3 mal den mittleren Fehler, was

bedeutet, daß der positive Wert von Versuchsfehlern herrühren kann und sicherlich davon herrührt.

Nur beim Rinde ist die mittlere Zahl größer als 2—3 mal den mittleren Fehler.

In Übereinstimmung mit einer Reihe früherer Verfasser möchte man sich daher vielleicht versucht fühlen, die Rinderblutkörperchen als wenig permeabel für Glucose zu bezeichnen. Dieser Begriff selbst ist indessen sinnlos, wenn er nicht nur schwer permeabel bezeichnen soll, was er jedoch im größten Teil der Permeabilitätsliteratur nicht tut. Wenn die Membran überhaupt permeabel ist, muß die Konzentration des Stoffes, wenn das Gleichgewicht erreicht ist, durch das Verteilungsverhältnis des Stoffes zwischen den beiden Medien bestimmt und von der Membran vollständig unabhängig sein, wenn von der Masse der Membran abgesehen wird — die Membran ist nur maßgebend für die Zeit, welche vor dem Eintreten des Gleichgewichts verstreicht, nicht aber für die Stoffverteilung nach dem Eintreten des Gleichgewichts.

Der geringe, aber doch deutlich positive Wert von $\frac{B_1}{P_1}$ beim Rinde beruht sicherlich auf einem systematischen Versuchsfehler, indem es bei der langsam laufenden Zentrifuge nicht möglich war, die Rinderblutkörperchen absolut quantitativ zusammen zu zentrifugieren, wie man dies bei dem Blut der anderen Tierarten zu tun vermochte.

Bei der Untersuchung der Stoffverteilung ist es daher von entscheidender Bedeutung, zu wissen, ob man tatsächlich dem Gleichgewichtszustande gegenüber steht.

Wenn ich auch ursprünglich davon ausging, daß das Gleichgewicht infolge der gewaltigen Oberfläche und des minimalen Diffusionsweges sich einigermaßen momentan einstellen müsse, so zeigte eine Reihe von Versuchen, die späterhin veröffentlicht werden sollen, daß man, was die Anionen betrifft, damit rechnen muß, daß die Diffusion vom Plasma zu dem Blutkörperchen eine beträchtliche Zeit in Anspruch nehmen müsse. Es ist daher möglich, daß die gefundene Zuckerverteilung nicht dem Gleichgewichtszustande entspricht. Eine solche Ansicht scheint sofort von den genannten Tabellen widerlegt zu werden, aus denen man sieht, daß das Verteilungsverhältnis einigermaßen unabhängig davon ist, ob die Glucose 1, 2 oder 6 Stunden vor der Trennung

zugesetzt wurde, ja sogar ein 24stündiges Stehen mit der Glucose scheint keinen merkbaren Einfluß gehabt zu haben.

In einem besonderen Versuch, in welchem ich Rinderblutkörperchen mit etwa 5% Glucose mischte und die Mischung 2 Tage stehen ließ, enthielt das Plasma zu diesem Zeitpunkt 3,33% Glucose, die Blutkörperchen 0,15% Glucose, $\frac{B}{P} = 4{,}5\%$.

Es ist daher nicht möglich, die Versuche in anderer Weise zu deuten, als daß das Blutkörperchenhäutchen bei Kaninchen, Ziege, Rind und Hund für Glucose impermeabel ist[1]).

Die Versuche wurden ausgeführt sowohl mit defibriniertem Blut als mit Blut, zu dem Natriumfluorid, Kaliumionen (sowohl in Form von Kaliumoxalat als Kaliumchlorid) und Calciumchlorid gesetzt war; ein Unterschied war nicht zu bemerken; die Blutkörperchenmembran war in allen Fällen impermeabel für Glucose. Es zeigte sich ferner, daß Veränderungen der CO_2-Spannung keine Veränderung bewirkten.

Von nicht geringem Interesse ist das Verhältnis $\frac{B}{P}$, das die Verteilung von reduzierenden Stoffen zwischen Blutkörperchen und Plasma unter natürlichen Verhältnissen angibt. Die Tiere, deren Blutkörperchen impermeabel für Zucker sind, enthalten nur kleine Mengen von reduzierender Substanz, aber der Gehalt ist doch in der Regel so groß und so konstant, daß von Versuchsfehlern kaum die Rede sein kann. Die Menge von reduzierender Substanz schwankt bei Ziege und Kaninchen zwischen 0,004

---

[1]) Brinkmann und van Dam haben (Arch. internat. de physiologie 1919 und diese Zeitschr. **105**. 1920) zu zeigen gesucht, daß die Blutkörperchen sowohl des Menschen als des Frosches unter normalen Verhältnissen für Glucose impermeabel sind, daß sie aber, wenn das Blut aus den Gefäßen hinauskommt, permeabel werden. Diese Permeabilität ist daher nicht als normale Eigenschaft aufzufassen, sondern als eine Folge einer in den allerersten Phasen der Koagulation des Blutes auftretenden Beschädigung, die gleichfalls beim Gebrauch der meisten koagulationshindernden Mittel auftritt, da diese die ersten Phasen am Koagulationsprozeß nicht hindern.

Auf den Hauptpunkt von Brinkmann und van Dams Abhandlung werde ich später zurückkommen, hier möchte ich nur vor einer Verallgemeinerung ihrer Resultate warnen. Die Blutkörperchen der genannten Tiere sind und bleiben impermeabel trotz des Eintretens der Koagulation und trotz des Gebrauchs der koagulationshindernden Mittel.

und 0,007, welche Größe also der Menge der Restreduktion entspricht. Etwas anders stellt sich das Verhältnis beim Hunde; hier ist die Menge der reduzierenden Substanz in den Blutkörperchen in den meisten Fällen so groß, daß auch der Umstand, daß sämtliche reduzierende Stoffe des Blutes sich in den Blutkörperchen befänden, nicht genügen würde, um das große Reduktionsvermögen zu erklären.

Da ich in einer früheren Arbeit[1]) gezeigt habe, daß die restreduzierenden Stoffe sich einigermaßen gleichmäßig zwischen Plasma und Blutkörperchen verteilen, herrscht also kein Zweifel darüber, daß die Hundeblutkörperchen eine gewisse geringe Menge Zucker enthalten, während sie sich bei Versuchen in vitro als impermeabel für Glucose erwiesen.

Es läßt sich wohl kaum leugnen, daß die einfachste Erklärung dafür, daß die Glucose — sei es, daß sie sich präformiert vorfindet oder dem Plasma zugesetzt worden ist — nicht in die Blutkörperchen hineindringt, die ist, daß das Blutkörperchen von einer für Glucose impermeablen Membran umgeben ist.

Nichtsdestoweniger würde es von großem Interesse sein, zu untersuchen, wie die Glucose sich zwischen Plasma und Blutkörperchengehalt verteilen würde, wenn die impermeable Membran entfernt oder zerstört würde. Wie die Glucose sich in solchen Fällen verteilen würde, habe ich in 3 verschiedenen Weisen festzustellen versucht:

1. Durch Untersuchung der Glucosekonzentration im Plasma und Blutkörperchensaft bei voller Sättigung.

2. Durch Dialysieren von glucosehaltigem Plasma gegen glucosehaltigen Blutkörperchensaft.

3. Durch Untersuchung der Glucoseverteilung zwischen Plasma und Blutkörperchen nach Formolbehandlung.

1. Verteilung bei voller Sättigung.

10 ccm Blutkörperchensaft (ein Rinderblutkörperchenbrei, 19% Plasma enthaltend, mit Sand gerieben und mit Kieselgur gepreßt) und

10 ccm Plasma wurden mit Glucose gesättigt durch 5stündiges Schütteln mit Überschuß von Glucose; um die Lösungen von aufgeschwemmten Glucosepartikeln zu befreien, wurden sie $1^1/_2$ Stunden zentrifugiert.

[1]) Diese Zeitschr. **107**. 1920.

Die Zuckeranalyse ergab:

1 ccm Plasma enthielt . . . . 0,41 g
1 ccm Blutkörperchensaft. . . . . . 0,33 g.

Das Verteilungsverhältnis bei voller Sättigung[1]) ist also 80%.

Die Trockenstoffbestimmung ergab in dem

Blutkörperchensaft 71 Volumenprozent H_2O
Plasma . . . . . 92 „ H_2O.

Das Verhältnis zwischen den Wassermengen = 77.

Bei voller Sättigung ist das Glucoseverteilungsverhältnis zwischen dem Blutkörpercheninhalt und dem Plasma ungefähr gleich dem Verhältnis zwischen den Wassermengen.

2. Um zu untersuchen, ob diese Regel auch bei den niedrigen Zuckerkonzentrationen Stich hält, bei denen die Versuche ausgeführt wurden, suchte ich Plasma und Blutkörperchensaft gegeneinander zu dialysieren.

Leider ergaben diese Versuche kein brauchbares Resultat. Das Gleichgewicht stellt sich nämlich, trotzdem eine fortwährende Mischung sowohl der inneren als der äußeren Lösung stattfindet, so langsam ein, daß man keine Garantie dafür hat, daß das absolute Gleichgewicht eingetreten sein wird, bevor die Flüssigkeiten zu verfaulen beginnen und der Versuch daher unterbrochen werden muß.

Wenn ich, trotzdem ich Versuche angestellt habe mit Plasma und Blutkörperchensaft, wozu ich Glucose gesetzt hatte, sodaß das Verteilungsverhältnis um 75% zu liegen kam und das Gleichgewicht daher — nach dem vorhergehenden Versuche zu urteilen — von vornherein vorhanden sein mußte, doch nicht zu behaupten wage, daß nach 4tägiger Dialysierung ein Gleichgewicht erzielt war, so beruht dies darauf, daß es mir nicht möglich gewesen war, einen Glucoseschwund zu verhindern, und daß dieser anscheinend im Blutkörperchensaft am größten war.

Die Verteilungsverhältnisse, die ich nach dieser Methode zwischen 40 und 60% liegend fand, betrachte ich daher nicht als reell.

3. Masing hat gezeigt, daß das Blutkörperchenhäutchen nach einer angemessenen Formolbehandlung für Glucose permeabel

[1]) Es mag zweifelhaft sein, ob die volle Sättigung erreicht wurde, da aber die Proben durchaus gleich behandelt wurden, hat man es sicherlich erreicht, einigermaßen denselben Sättigungsgrad zu erzielen.



wird; nach der Formolbehandlung wird die Glucose sich „einigermaßen gleichmäßig" zwischen Blutkörperchen und Plasma verteilen bei den Tieren, bei denen das Häutchen sonst für Glucose impermeabel ist.

Dazu kann ich noch den Aufschluß fügen, daß die Formolbehandlung (das Blut zu etwa 2% wird etwa 24 Stunden stehen gelassen) das Blutkörperchenhäutchen überaus leicht permeabel für Elektrolyten macht, wie ich dies in einer späteren Arbeit eingehender darstellen werde.

Durch Untersuchungen über die Glucoseverteilung zwischen Plasma und formolbehandelten Blutkörperchen sollte man also das Verteilungsverhältnis bestimmen können, so wie dies sich von der impermeablen Membrane unabhängig einstellen müßte.

In einer Reihe von den Versuchen, in denen das Verteilungsverhältnis unter normalen Verhältnissen untersucht wurde, habe ich Formol ($^1/_{20}$ Vol. etwa 40 proz. Formol) zugesetzt und die Proben bis zum nächsten Tag stehen lassen. Blutkörperchen und Plasma trennen sich, und das Formol wird weggekocht, wonach die Zuckeranalysen wie gewöhnlich ausgeführt werden.

Die Versuche enthalten jedoch eine Schwierigkeit. Die Formolbehandlung scheint auf das Blutkörperchenvolumen einzuwirken, weshalb neue Hämatokritbestimmungen angestellt werden müssen; da es aber nicht möglich war, die Blutkörperchensäule lackfarbig zu machen, hat man keine Garantie dafür, daß man eine Bestimmung des wahren Blutkörperchenvolumens erhält. In einzelnen Fällen war es ganz unmöglich, eine Bestimmung des Blutkörperchenvolumens zu erhalten. Bei Behandlung mit Formol kann das Plasma so viscös werden, daß es vollständig unmöglich wird, die Blutkörperchen sogar in der schnellaufenden Zentrifuge hinabzuzentrifugieren, in anderen Fällen gelang es allerdings, die Blutkörperchen und das Plasma zu scheiden. Wenn die gefundenen Volumina aber das wahre Blutkörperchenvolumen vertreten, müßte man annehmen, daß die Blutkörperchen infolge der Formolbehandlung um 100% geschwollen waren, was nach einer direkten mikroskopischen Untersuchung aber nicht der Fall war; diese Versuche konnten daher nur zeigen, daß die Glucose in die Blutkörperchen hineingedrungen war; in wie großen Mengen, ließ sich aber nicht entscheiden.

Die laufenden Nummern beziehen sich auf die Versuche vor der Formolbehandlung. Die etwaige Volumenveränderung infolge der Formolbehandlung ist unberücksichtigt geblieben.

Nr.	Blut-körperchen	Blut-flüssigkeit	Totalblut, bestimmt	Totalblut, berechnet	$\frac{B}{P}$
		Ziege:			
8	0,031	0,062	0,077	0,056	50
9	0,075	0,160			46
	0,137	0,360	0,319	0,320	38
		Rind:			
12	0,116	0,196			59
13	0,240	0,527			45
		Kaninchen:			
5	0,063	0,082			78
6	0,236	0,492			48

Die Glucoseverteilung nach dem Formolzusatz zeigt wieder, daß ein Verteilungsverhältnis $\frac{B}{P}$ gleich oder nahezu gleich 0 sich nur durch die Annahme eines das Blutkörperchen umgebenden Häutchens erklären läßt, das für Glucose impermeabel ist und dagegen weder durch eine geringe Löslichkeit gegenüber Glucose in betreff des Blutkörperchengehaltes noch durch eine besondere Affinität für Glucose seitens des Plasmas.

Die Glucoseverteilung zwischen Blutkörperchen und Plasma bei diesen Tieren nach der Formolbehandlung erinnert — von den etwas niedrigeren Verteilungsverhältnissen abgesehen — an die Glucoseverteilung beim Menschen ohne diese Behandlung. Wie nahe es auch liegen mag, zu behaupten, daß diese Ähnlichkeit rationell begründet ist, neige ich doch mehr zu der Ansicht, daß wir hier einem zufälligen Umstande gegenüberstehen.

Es ist gleichfalls eine sehr große Frage, ob diese Verteilung derjenigen entspricht, die wir erhalten müßten, wenn wir die Blutkörperchenmembran bei diesen Tieren durch eine künstliche Membran ersetzten, die für dieselben Stoffe impermeabel und permeabel wäre wie das Blutkörperchenhäutchen, abgesehen von der Glucose, für die sie permeabel sein sollte. Denn teils erhält man nach der Formolbehandlung eine ganz andere Verteilung der Elektrolyten der beiden Phasen, teils eine Destruktion des Proteinstoffes, und schließlich deutet die gesteigerte Viscosität sowohl des Plasmas als des Blutkörperchensaftes nach dem

Formolzusatz (ein nicht besonders konzentrierter Blutkörperchensaft wird nach dem Formolzusatz zu einem vollständig steifen Gelee) auf ganz andere disponible Wassermengen als unter normalen Verhältnissen.

Die Zuckerverteilung beim Menschen.

Die Tabelle über die Verteilung des Blutzuckers zeigt sofort, daß die Menschenblutkörperchen sich gegenüber Glucose ganz anders verhalten als die Blutkörperchen der früher behandelten Tiere[1]).

Die Blutkörperchen enthalten unter normalen Verhältnissen immer Glucose in merkbaren Mengen; wird $\frac{B}{P}$ berechnet, so findet man einen einigermaßen konstanten Wert zwischen 70 und 80%. Der Zuckerprozentsatz der Blutkörperchen beträgt somit annäherungsweise $^3/_4$ von dem des Plasmas. Die Blutzuckerprozentsatzbestimmung in der Klinik findet sozusagen immer an Gesamtblut statt; dies geschieht jedoch sicherlich nur aus rein praktischen Gründen, da man wohl darüber einig sein kann, daß die Kenntnis der Plasmazuckerkonzentration die größte Bedeutung hat. Bönniger[2]) hat daher auch behaupten wollen, daß man stets den Zuckerprozentsatz des Plasmas bestimmen sollte.

Die vorliegenden Analysen zeigen, daß die Zuckerverteilung beim Menschen von einer solchen Art ist, daß es ohne Bedeutung ist, ob die Zuckerbestimmungen am Plasma oder am Gesamtblut ausgeführt werden. Allerdings könnte man sich Fälle vorstellen, in denen ein Unterschied am Zuckergehalt des Gesamtblutes nicht auch einen Unterschied der Plasmazuckerkonzentration zu bedeuten brauchte, sondern von einem Unterschied im Blutkörperchenvolumen oder im Verteilungsverhältnis herrühren könnte; aber der Unterschied kann infolge des hohen und einigermaßen konstanten Verteilungsquotienten nicht groß sein. Ein Übergang zu Plasmazuckerbestimmungen statt der Zuckerbestimmungen am Gesamtblut würde daher kaum irgendwelchen Gewinn abgeben, um so weniger, als das Entscheidende in allen Fällen, wo man

[1]) Diese Permeabilität gegenüber Glucose findet sich auch in Blut, dessen Koagulation mittels Hirudin verhindert ist. Die entgegengesetzte Angabe von Falta und Richter-Quittner trifft, wie aus Hagedorns und meinen Untersuchungen (diese Zeitschr. 107. 1920) hervorgeht, nicht zu.

[2]) Dtsch. med. Wochenschr. 1908.

den Blutzuckerbestimmungen die Plasmazuckerbestimmungen vorziehen würde, nicht der Plasmazuckerprozentsatz ist, sondern man vielmehr die Plasmazuckertension zu kennen wünscht, und über diese erhält man doch keinen absolut zuverlässigen Aufschluß durch eine gewöhnliche Zuckeranalyse.

Dagegen muß man darüber im klaren sein, daß die Plasmazuckerkonzentration bedeutend höher beim Tiere als beim Menschen ist, wenn die Zuckerkonzentration des Gesamtblutes identisch ist; findet man andererseits folgende Blutzuckerprozentsätze: 0,10% beim Menschen und 0,07% beim Rinde, welche Zahlen wohl den normalen Durchschnittswerten entsprechen, so bedeutet das keineswegs einen entsprechenden Unterschied des Plasmazuckerprozentsatzes. Nimmt man an, daß das Blutkörperchenvolumen 35% beträgt und das Verteilungsverhältnis $\frac{B}{P}$ beim Menschen = 75%, beim Rinde = 0 ist, so findet man beim Menschen eine Plasmazuckerkonzentration von 0,111 und beim Rinde eine solche von 0,108, also praktisch gesprochen dieselben Werte.

Untersucht man die Zuckerverteilung nach dem Zusatz von Glucose zu Menschenblut, so findet man, wie das hohe und konstante Verteilungsverhältnis unter normalen Verhältnissen vermuten läßt, daß die Blutkörperchen wesentliche Mengen der zugesetzten Glucose aufnehmen; bei Berechnung des Verhältnisses $\frac{B}{P}$ oder $\frac{B_1}{P_1}$ zeigt sich, daß dies Verhältnis nicht konstant ist, sondern, von unregelmäßigen Schwankungen abgesehen, bei zunehmenden Plasmakonzentrationen fällt, wie auch Masing festgestellt hat.

Auf die eigentliche Diskussion der Frage: Ist die in der Blutkörperchenmelasse beim Menschen vorkommende Glucose an die Oberfläche des Blutkörperchens gebunden, oder ist sie in der Blutkörperchenflüssigkeit in freier Lösung vorhanden? werde ich in einer späteren Arbeit zurückkommen; hier soll nur besprochen werden, was man eventuell aus dem Verteilungsverhältnis schließen kann[1]).

[1]) Dieses vertritt sowohl in meinen wie in Masings Versuchen kaum den absoluten Gleichgewichtszustand, wie später dargelegt werden soll. Innerhalb desselben Versuches ist die Verteilung bei den verschiedenen Konzentrationen nach genau gleich langem Stehenlassen ausgeführt worden, so daß die Zahlen trotzdem direkt vergleichbar sind.



Masing macht darauf aufmerksam, daß das mit steigender Zuckerkonzentration fallende Verteilungsverhältnis sofort den Gedanken auf eine Adsorption hinleitet, kommt aber doch zu dem Resultat, daß die Glucose nichtsdestoweniger in der Blutflüssigkeit frei gelöst sein muß.

Das mit der Zuckerkonzentration schwankende Verteilungsverhältnis steht indessen in direktem Widerspruch zu Nernsts Verteilungsgesetz, nach dem das Verteilungsverhältnis eines Stoffes zwischen 2 Lösungsmitteln von der Konzentration des Stoffes unabhängig ist, solange der Stoff wohl zu bemerken in den beiden Phasen in demselben Molekularzustand vorhanden ist. Das Gesetz ist auf theoretischem Wege hergeleitet und experimentell bestätigt worden; in einigen Fällen trifft man anscheinende Ausnahmen, aber in solchen Fällen hat man gezeigt, daß man in den beiden Phasen mit verschiedenen Dissoziationsgraden zu tun hatte (wenn der Stoff ein Elektrolyt und das eine Lösungsmittel Wasser war), in anderen Fällen wiederum ist man zu befriedigenden Erklärungen der Abweichungen gekommen, indem man annahm, daß der Stoff in der einen Phase als ein Doppelmolekül (oder ein Komplex von 3 oder mehr Molekülen) vorhanden war, aber in anderen Fällen haben die tatsächlich gefundenen Verteilungsverhältnisse sich nicht in den Rahmen des Verteilungsgesetzes hineinfügen lassen[1]).

Fragt man daher, ob das variable Verteilungsverhältnis als Argument für oder wider eine einfache Lösung der Glucose in den beiden Phasen gebraucht werden kann, so muß die Antwort vorläufig eine ablehnende sein.

Möglicherweise kann man geltend machen, daß man eigentlich nicht Nernsts Verteilungsgesetz anzuwenden braucht, indem man vielleicht ausschließlich in beiden Phasen demselben Lösungsmittel für Glucose, nämlich Wasser, gegenübersteht; — diese Betrachtung wird nur berechtigt sein können, falls die Glucose gar nicht in der dispersen Phase des Blutkörperchens und des Plasmas gelöst werden kann, — aber in dem Falle müßte man gleichfalls eines konstanten Verteilungsverhältnisses $\frac{B}{P}$ gewärtig sein, und dies müßte dann $= \frac{\text{Wassermenge des Blutkörperchens}}{\text{Wassermenge des Plasmas}}$ sein.

Aber dies Gesetz gilt auch nicht; wenn es auch anscheinend bei niedrigen Zuckerkonzentrationen gilt, kann es jedenfalls nicht gelten, wenn die Zuckerkonzentration zunimmt.

Zusammenfassung.

I. Bei Ziege, Rind und Kaninchen enthält das Blutkörperchen keine Glucose; beim Hund dagegen kleine — aber deutliche — Mengen, etwa $^1/_3$ vom Plasma; beim Menschen beträgt die Glucosekonzentration etwa $^3/_4$ von der des Plasmas.

---

[1]) Siehe eine Reihe Tabellen bei Landolt und Boernstein, 4. Aufl.

II. Wird Glucose zu Blut von Ziege, Rind, Kaninchen und Hund gesetzt, so bleibt die ganze Menge im Plasma; da die Glucose im Blutkörperchengehalt löslich ist, muß das Blutkörperchenhäutchen bei diesen Tieren impermeabel für Glucose sein.

III. Diese Impermeabilität wird durch Behandlung der Blutkörperchen mit Formol aufgehoben, durch welche Behandlung die Blutkörperchen übrigens auch für Elektrolyten permeabel werden.

IV. Nach dieser Formolbehandlung sind die Glucosekonzentrationen in den Blutkörperchen und im Plasma nicht identisch.

V. Wird die für Glucose impermeable Membrane zerstört, so hat man zu erwarten, daß die Glucose sich zwischen den beiden Phasen in einem dem Verhältnis zwischen dem Wassergehalt der Phasen entsprechenden Verhältnis verteilt.

VI. Wird dem Menschenblut Glucose zugesetzt, so verteilt sie sich zwischen Blutkörperchen und Plasma. Das Verteilungsverhältnis $\frac{B}{P}$ ist nach gleich langem Stehenlassen variabel, von etwa 75 bei niedrigen Glucosekonzentrationen bis zu etwa 50 bei hohen fallend.

Im Gegensatz zu früheren Verfassern, die nur eine empirische Bestimmung der Glucoseverteilung zwischen Plasma und Blutkörperchen anstellten, suchen Kozawa und namentlich Masing, die gefundenen Verteilungsverhältnisse zu erklären.

Nach Masing gibt es drei Erklärungsmöglichkeiten:

1. Die Glucose kann durch das Blutkörperchenhäutchen eindringen und hier frei vorkommen.

2. Die Glucose kann an den Blutkörpercheninhalt gebunden werden[1]).

---

[1]) Die zweite Erklärungsmöglichkeit steht nicht, wie Masing anzunehmen scheint, in einem direkten Gegensatzverhältnis zu der ersten. Soll die Glucose an den Blutkörpercheninhalt gebunden werden, muß sie erst durch das Blutkörperchenhäutchen eindringen und sich in den beiden Phasen verteilen, so daß ein partielles osmotisches Gleichgewicht für die Glucose erzielt wird. Mittels der von Masing angewendeten Hämatokrit- und Hämolyseversuche müßte man, wenn die Versuche wirklich durchgeführt würden, entscheiden können, ob es die dritte Erklärungsmöglichkeit ist, welche die rechte ist, oder ob es eine von den beiden anderen ist; aber inwiefern 1 oder 2 die rechte ist, kann man nicht in dieser Weise entscheiden.

3. Die Glucose kann an die Blutkörperchenoberfläche adsorbiert sein.

Masing und Kozawa suchen nun, zu entscheiden, welche von diesen Möglichkeiten die rechte ist, indem sie untersuchen, ob die Blutkörperchen in „isotonischen" Lösungen hämolysieren, oder indem sie die Volumenveränderungen der Blutkörperchen in einer „isotonischen" Glucoselösung oder isotonischen Salzlösung mit Zusatz von Glucose bestimmen; sowohl Masing als Kozawa meinen, daß ihre Versuche die Richtigkeit der ersten Erklärungsmöglichkeit dartun.

Nach der allgemeinen Auffassung bedingt der osmotische Druck der äußeren Flüssigkeit das Volumen der Blutkörperchen. Wenn die äußere Flüssigkeit dieselbe osmotische Konzentration hat wie die innere, werden die Blutkörperchen ein gewisses Volumen haben; hat die Flüssigkeit einen anderen osmotischen Druck, wird eine Ausgleichung stattfinden; besteht die Flüssigkeit aus Stoffen, für die das Blutkörperchenhäutchen impermeabel ist — und dies gilt von den meisten Stoffen — so kann die Ausgleichung der osmotischen Konzentration nur durch eine Verschiebung von Wasser stattfinden, für das das Blutkörperchenhäutchen permeabel ist; es muß daher Wasser von dem Blutkörperchenhäutchen in die äußere Flüssigkeit hinaus abgehen oder umgekehrt, bis ein neuer Gleichgewichtszustand erreicht worden ist.

Ist die osmotische Konzentration der äußeren Flüssigkeit geringer als die des Blutkörpercheninhalts, wird das Wasser in die Blutkörperchen hineindringen; diese werden daher anschwellen, bis die osmotische Druckdifferenz aufgehoben ist[1]). Wenn die osmotische Konzentration der äußeren Flüssigkeit besonders niedrig ist, muß eine sehr starke Wasserverschiebung stattfinden, bevor das Gleichgewicht erreicht wird; da das Blutkörperchenhäutchen nur eine gewisse Spannung verträgt, wird das Anschwellen der Blutkörperchen eine Sprengung des Häutchens bewirken, weshalb in Wasser und sehr hypotonischen Lösungen Hämolyse stattfinden muß.

Diese Betrachtungen treffen nur zu, wenn das Blutkörperchenhäutchen für die Stoffe der äußeren Flüssigkeit impermeabel ist. Besteht die äußere Flüssigkeit dagegen ausschließlich aus einem

[1]) Inwiefern ein absolutes Gleichgewicht erreicht wird oder nicht, soll später erörtert werden.

Stoff, für den das Häutchen permeabel ist, so muß dieser Stoff sich gleichmäßig zwischen der äußeren Flüssigkeit und dem Blutkörperchen verteilen. Die osmotische Konzentration wird dann für diesen Stoff gleich groß sein in der äußeren und in der inneren Flüssigkeit; da in den Blutkörperchen ein der normalen osmotischen Konzentration der Blutkörperchen entsprechender osmotischer Überdruck vorhanden ist, muß daraus folgen, daß die Blutkörperchen hämolysieren werden, als ob die äußere Flüssigkeit ausschließlich aus Wasser bestände, wie dies tatsächlich mit Blutkörperchen in Lösungen von Harnstoff und anderen Stoffen, die in das Blutkörperchen hineindringen, der Fall ist.

Es ist daher unmöglich, aus diesen Stoffen eine isotonische Lösung herzustellen, falls wir unter einer isotonischen Lösung in Übereinstimmung mit Hamburger[1]) eine Lösung verstehen wollen, in der die Blutkörperchen ihr Volumen bewahren. Eine Lösung, die dem Blute isotonisch ist, d. h. eine Lösung, in der die Blutkörperchen dasselbe Volumen haben wie in dem natürlichen Plasma, braucht nicht dem Plasma isosmotisch zu sein, wie wir dies an einer Reihe von Beispielen später zu sehen bekommen werden.

Die Wörter isotonisch und isosmotisch werden in der Regel durcheinander gebraucht; ersteres stammt von Hugo de Vries, letzteres von Tamman her. Von diesen Wörtern ist isosmotisch sicherlich vorzuziehen als Bezeichnung der physikalischen Eigenschaft, daß die Flüssigkeiten „äquimolar“ sind[2]), während der Begriff „Isotonie“, da kaum ein Grund vorliegt, für denselben Begriff zwei Termini zu haben, ausschließlich in der Hamburgerschen Bedeutung als Bezeichnung einer Lösung anzuwenden ist, welche die rein biologische Eigenschaft besitzt, daß in ihr aufgeschwemmte Zellen ihr ursprüngliches Volumen bewahren. Die Ursache dafür, daß diese beiden Bezeichnungen in der Regel durch die Bank angewendet werden, liegt unzweifelhaft in der Auffassung, daß man meinte, daß äquimolare — isosmotische — Lösungen tatsächlich dasselbe Blutkörperchenvolumen ergäben, und umgekehrt, daß Lösungen, die dasselbe Blutkörperchenvolumen ergeben, äquimolar sein müßten; da dies aber nicht der Fall ist, ist es sicherlich geraten, diese Sonderung konsequent durchzuführen.

Schwemmt man Blutkörperchen in einer dem Blute isosmotischen Lösung eines Stoffes, der mit geringer Geschwindigkeit in die Blutkörperchen hineindringt, so müssen die Blutkörperchen

---

[1]) Osmotischer Druck und Ionenlehre, I, S. 187.

[2]) Nicht zu verwechseln mit äquimolekular.

anschwellen, da nur die Differenz zwischen der Konzentration des Stoffes außen und innen imstande ist, den osmotischen Gegendruck zu leisten. Die äußere Flüssigkeit wird allmählich hyposmotisch im Vergleich mit dem Blutkörpercheninhalt, die Blutkörperchen schwellen an, um schließlich zu hämolysieren.

Setzt man einen Stoff, für den das Blutkörperchenhäutchen permeabel ist, zu einer 0,9 proz. NaCl-Lösung (einer sogenannten isotonischen Lösung), so soll das Blutkörperchenvolumen unverändert bleiben, oder wenn der Stoff langsam eingeht, muß sich erst ein Schrumpfen einstellen, das wieder schwindet, allmählich wie der Stoff sich gleichmäßig zwischen den beiden Phasen verteilt. Dringt ein Stoff in die Blutkörperchen ein, muß dies sich daher in folgender Weise zeigen:

1. Die Blutkörperchen werden schwellen und allmählich in Lösungen des betreffenden Stoffes hämolysieren, und zwar sowohl wenn die Lösung isosmotisch, als wenn sie hyperosmotisch ist. Dringt der Stoff schnell ein, wird das Anschwellen sich nicht feststellen lassen; man sieht nur die augenblickliche Hämolyse. In dem Falle muß man natürlicherweise untersuchen, ob wir mit einer Schwellungshämolyse zu tun haben oder nicht.

2. In einer 0,9 proz. Lösung oder in einer anderen isotonischen Lösung, die durch Zusatz von etwas von dem betr. Stoff hyperosmotisch gemacht worden ist, sollen die Blutkörperchen entweder ihr Volumen unverändert behalten oder, wenn der Stoff langsam eindringt, schrumpfen. Das Schrumpfen darf jedoch nicht von bleibender Art sein, sondern muß sofort durch ein Schwellen abgelöst werden, das erst wieder aufhört, wenn das ursprüngliche Volumen erreicht worden ist.

Von diesen und entsprechenden Voraussetzungen ausgehend, stellen Masing und Kozawa eine Reihe von osmotischen Untersuchungen an, um festzustellen, ob die Glucose und andere Zuckerarten tatsächlich in Menschen- und Hundeblutkörperchen eindringen.

Es muß jedoch angeführt werden, daß weder Masing noch Kozawa diese Grundsätze formulieren; wir sehen daher auch in ihren Versuchen Verhältnisse vorkommen, die diesen Voraussetzungen widersprechen, ohne daß dies auf ihre Schlußfolgerungen einen Einfluß ausübt. Bei Kozawa finden wir eine Reihe quantitativer Untersuchungen über das Anschwellen von Menschenblut-

körperchen in osmotischen Lösungen von Glucose (und anderen Monohexosen); er stellt in allen mit Glucose ausgeführten Versuchen ein sehr bedeutendes Schwellen fest; von diesen 9 Versuchen erstrecken sich fünf über 6—7 Stunden, vier über längere Zeit (17—22 Stunden); nur in einem von den 9 Versuchen hat Hämolyse stattgefunden. Kozawa führt an, daß Hundeblutkörperchen ohne vorhergehendes Anschwellen in „isotonischer“ Glucoselösung hämolysieren. Bei Mischung von gleichen Teilen Ringerscher Lösung oder 0,9 proz. NaCl-Lösung und isotonischer Glucoselösung tritt gegen Erwarten kein Schwellen ein, dagegen bleibt das Schrumpfen in einer 0,9 proz. NaCl-Lösung aus, die stark hyperosmotisch gemacht worden ist, indem sie gleichzeitig 2,5% Glucose enthielt. Ganz entsprechende Verhältnisse findet Masing, wenn seine osmotischen Untersuchungen auch nicht so eingehend sind wie die von Kozawa angestellten. Auch er findet, daß Menschenblutkörperchen in osmotischer Glucoselösung anschwellen, und daß die Hämolyse nach 5—6 Stunden eintritt (fängt bereits nach 1—2 Stunden an). Hundeblutkörperschen hämolysieren in einer isosmotischen Glucoselösung, aber ohne vorhergehendes Schwellen. Aus diesen Versuchen schließen Masing und Kozawa, daß die Glucose in die Blutkörperchen des Menschen eindringt und sich hier in einem osmotisch aktiven Zustande findet.

Dies gilt nach Masing und Kozawa auch von Hundeblutkörperchen. Masing und Kozawas Untersuchungen enthalten doch einen Widerspruch um den anderen, was bei einer näheren Betrachtung der Versuche sehr deutlich zutage tritt. Nach den direkten chemischen Bestimmungen schließen Masing und Kozawa, daß nach $^1/_4$—1 Stunde Diffusionsgleichgewicht erreicht worden ist; zu dem Zeitpunkt sollte die Zuckertension außen und innen identisch sein, weshalb man spätestens zu dem Zeitpunkt erwarten müßte, eine ebenso totale Hämolyse zu erhalten, als wenn die Blutkörperchen in reinem Wasser aufgeschwemmt worden wären. Masing gibt allerdings an, daß Menschenblutkörperchen in isosmotischen Glucoselösungen hämolysieren, und daß die Hämolyse nach 5 Stunden fast vollständig ist; nach 2 Stunden ist dagegen nur eine Spur davon da. Kozawa findet in einer Reihe von über 6 Stunden sich erstreckenden Versuchen keine Hämolyse, nur in einem Fall von über 21 Stunden wird „Hämo-

lyse" angeführt, während diese in anderen über 23 Stunden dauernden Versuchen nicht eintrat. — **Masing** und **Kozawa** benutzen, wie erwähnt, die angeführten Versuche als Beweis dafür, daß die Glucose in die Blutkörperchen eindringt; ein kritischer Leser wird sicherlich zu einem etwas anderen Resultat kommen. Meiner Meinung nach sind drei Möglichkeiten denkbar:

1. Entweder müssen Masings und Kozawas direkte chemische Analysen durchaus irrtümlich sein, aber diese Erklärung ist, wie wir teils gesehen haben und teils noch sehen werden, nicht die rechte;

2. oder auch müssen die Volumen- und Hämolysenuntersuchungen, die sie angestellt haben, irrtümlich oder wenigstens nicht direkt vergleichbar sein mit den direkten chemischen Versuchen; da aber auch diese Versuche, wie wir späterhin sehen werden, im großen ganzen korrekt sind, sollte man meinen, daß es keine andere Möglichkeit gebe als die dritte;

3. daß die allgemeine osmotische Auffassung der Volumenveränderungen und des Hämolysenverhältnisses der Blutkörperchen einer Revision bedarf.

Als letzte Möglichkeit könnte man sich vorstellen, daß die Glucose erst in der Membranphase absorbiert wird und dann allmählich ganz langsam in die Blutkörperchenflüssigkeit hineindringt.

Experimentelle Studien über die Eigenschaften überlebender Gefäße unter Anwendung der chemischen Reizmethode[1]).

Von

E. Rothlin.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 29. Juni 1920.)

Mit 21 Abbildungen im Text.

Den Versuch am überlebenden Organ nennen wir jenes experimentelle Vorgehen, wo der Forscher unter mehr oder weniger willkürlich gestalteten, aber möglichst „physiologischen" Versuchsbedingungen die funktionellen Leistungen eines Organes oder Organkomplexes einer Analyse unterwirft. Dabei betrachten wir das Resultat als das Ergebnis der ursprünglichen Leistungsfähigkeit des untersuchten Organes, unabhängig von den chemischen und nervösen Einflüssen, welche im normalen Organismus fördernd oder hemmend eingreifen können. Es gibt kein Gebiet der Physiologie, dessen Kenntnisse durch dieses methodische Vorgehen nicht erweitert worden wären, ich nenne die Muskel- und Nervenphysiologie, die Physiologie des gesamten Zirkulationsapparates, die mechanischen und physiologisch-chemischen Leistungen des Magen-Darmtraktus, die Funktionen des Urogenitalsystems, der Leber usw. Ich bin mir aber bewußt, daß sich das Vorgehen meiner Studien an überlebenden Gefäßen nicht durch die anerkannten Erfolge dieser Methode auf anderen Gebieten der Physiologie rechtfertigen läßt. Aber wir können uns doch nicht verschweigen, daß jedes experimentelle Vorgehen mehr oder weniger ausgeprägte künstliche Versuchsverhältnisse schafft, und auch im sog. Versuch in vivo, wie man sich ausdrückt, schalten wir bewußt oder unbe-

[1]) Diese Arbeit wurde im April 1920 der med. Fakultät der Universität Zürich als Habilitationsschrift eingereicht.

wußt gewisse Faktoren aus, andere ein, verändern dadurch die normalen Lebensbedingungen des Versuchsobjektes, deren Tragweite wir im einzelnen Falle nicht immer bemessen können, aber stets bei der Beurteilung der Ergebnisse mit berücksichtigen sollten. Denken wir an die Folgen der Narkose mit der veränderten Tätigkeit der corticalen und subcorticalen Nervenzentren, an die Folgen eines chirurgischen Eingriffes, wobei in mannigfacher Weise eine Umstimmung der normalen inneren Lebensbedingungen eintreten kann — ich erwähne das Auftreten von Hyperglykämie unter solchen Maßnahmen —, so gelingt es offenbar praktisch nie unter absolut normalen „physiologischen" Bedingungen zu experimentieren. Trotzdem darf uns eine solche Erkenntnis nicht zu einem sterilen Pessimismus verleiten. Durch eine kritische Sichtung aller vermeidbaren Versuchsfehlerquellen suchen wir das Experiment, sei es in vivo, sei es am überlebenden Organe unter möglichst „physiologischen" Bedingungen auszuführen. Die Bewertung der erzielten Ergebnisse werden wir nicht in absolutem, sondern in relativem Sinne, d. h. mit strenger Berücksichtigung der veränderten Versuchsbedingungen vornehmen. Durch ein solches Vorgehen gelangen wir dann praktisch doch zu Resultaten, wie wir sie in unserem Lehrschatze über die Gesetzmäßigkeiten des Ablaufes physiologischer Vorgänge besitzen. Die Methodik am überlebenden Organ kann aber ohne Zweifel leicht zu Irrtümern führen, sobald bei der Schaffung der Versuchsbedingungen zu große Willkür herrscht und vor allem, wenn die Auslegung der gewonnenen Resultate nicht unter dem leitenden Gesichtspunkte der Komplexität der möglichen Fehlerquellen statthat. Wir werden uns stets vor Augen halten, daß wir bei diesem experimentellen Vorgehen die funktionellen Leistungen der Gefäße isoliert betrachten, daß wir die den Gefäßen eigenen Leistungen unabhängig von den komplexen chemischen und nervösen Einflüssen des übrigen Organismus unter Versuchsbedingungen untersuchen, welche den wirklichen physiologischen Verhältnissen der Gefäße in ihrem natürlichen Bett nicht analog sind. Von dieser Kenntnis geleitet wird die Analyse der Resultate stets vorsichtig und kritisch bemessen sein.

Unser Ziel in der ersten Abhandlung ist darauf beschränkt, neue Kenntnisse der allgemeinen, möglichst „physiologischen" Versuchsbedingungen für das Experimentieren

an überlebenden Gefäßen zu gewinnen. Diese Daten über das allgemeine Verhalten überlebender Gefäßsubstrate werden uns als Basis begleitend dazu dienen, in einem zweiten und dritten Teile die besonderen Leistungen überlebender Gefäße auf einige spezifisch chemische Reize sog. vasotonisierender Substanzen organischer Natur zu untersuchen und mit schon Bekanntem zu vergleichen. Diese spezielle Analyse der chemischen Beeinflussung der überlebenden Gefäße werden wir vorläufig so weit durchführen, als es sich um organische vasotonisierende Produkte handelt, deren Vorkommen auf Grund der Forschungen über die Stoffwechselprodukte an Organen ohne äußeren Ausführungsgang im Organismus zum Teil sicher, zum Teil wahrscheinlich ist. Besonderes Augenmerk lege ich dabei auf folgende Faktoren: auf die feine Differenzierung der angewandten Dosis, um dadurch nicht nur quantitative, sondern eventuell qualitative Unterschiede zu erzielen; auf das Verhalten verschiedener Gefäßgebiete gegenüber den verschiedenen chemischen Reizen; auf die Berücksichtigung der Variabilität bei verschiedenen Tierarten. Diese Abhandlung gibt einen Teil meiner seit Jahren gesammelten Erfahrungen auf diesem Gebiete wieder. Von der Unvollkommenheit meiner Ergebnisse bin ich zwar überzeugt, doch dürfte das Gesamtresultat die Ansicht berechtigen, daß systematische Untersuchungen am überlebenden Organ über die ursprünglichen Eigenschaften der Gefäße prinzipiell Neues aufzufinden erlauben und daß diese Daten in einer gemeinsamen Betrachtung mit den Ergebnissen in vivo unsere Auffassung über den Gefäßmechanismus weitgehend zu fördern imstande sind.

Methodik.

Meine Untersuchungen an überlebenden Gefäßen[1]) beziehen sich auf isolierte Gefäßstreifen, auf künstlich durchströmte Gefäßgebiete des Frosches und des Kaninchenohres, für die Untersuchungen an isolierten Gefäßstreifen verwendete ich die Versuchsanordnung von Mac William[2]) und O. B. Meyer[3]). Ein quer aufgeschnittener Arterienring

[1]) Herrn Dr. Schellenberg, Dir. des Schlachthofes in Zürich, sage ich für seine stete Dienstfertigkeit meinen verbindlichsten Dank.

[2]) Mac, William, Proceed. of the Royal Soc. of London. 69, p. 190. 1901; 70, 109. 1902.

[3]) O. B. Meyer, Zeitschr. f. Biol. 48, 352. 1906.

wird an einem Ende durch ein Gewicht beschwert und am andern Ende ist derselbe mit einem Schreibhebel in Verbindung, welcher die Längsveränderungen des Gefäßstreifens auf einem Kymographion registriert. Das Testobjekt befindet sich in einem mit physiologischer Nährflüssigkeit versetzten, 50 ccm fassenden Glasgefäß und letzteres in einem Thermostaten. Das Glasgefäß hat unten einen Ausfluß, wodurch die Versuchsflüssigkeit ohne irgendwelche Störung des Testobjektes durch Aushebern ausgewechselt werden kann. Auf weitere Einzelheiten der Methodik gehe ich hier nicht ein, da die prinzipiell wichtigen Faktoren im allgemeinen Teile eine eingehende Besprechung erfahren werden. Die Versuchsanordnung für die Experimente mit künstlicher Durchströmung verschiedener Gefäßgebiete beim Frosch und beim Kaninchenohr beruht in einer Überlaufmethode, wie sie von Fleisch[1]) im hiesigen Institute ausgearbeitet worden ist. Eine Mariottesche Flasche dient dabei als Reservoir für die Durchströmungsflüssigkeit, welche in mit O_2 gesättigter Ringerlösung besteht. Diese Reservoirflasche befindet sich in erhöhter Lage an einem leicht verstellbaren Stativ. Der Ausfluß dieser Flasche ist mit einem y-Rohr in Verbindung, von welchem der eine Schenkel zum Gefäßapparat führt, während der andere den Überlauf darstellt. Gerade hinter dem y-Rohr ist eine Glascapillare eingeschaltet, deren Masse dem erwünschten Durchflußvolumen angepaßt sind. Die Totaldurchflußmenge durch das ganze System beim Abschluß des Schenkels, welcher zum Versuchspräparate führt, ist bedingt durch die Höhendifferenz zwischen der Reservoirflasche und dem Niveau der Abtropffläche am Überlauf. Dieselbe kann bei erhaltener Konstanz des Niveaus der Abtropffläche am Überlauf durch Variation der Höhe der Reservoirflasche, sowie durch die eingeschaltete Glascapillare von verschiedener Weite und Länge variiert werden. Während des Versuches wird die Konstanz der Durchflußmenge durch das ganze System dadurch erreicht, daß der Flüssigkeitsspiegel der Reservoirflasche auf demselben Niveau gehalten wird. Ein Teil der Gesamtdurchflußmenge fließt dann von dem einen Schenkel durch das Versuchspräparat, der andere durch den Überlauf. Der Druck, welcher auf dem Versuchspräparat lastet, ist gegeben durch die Wassersäule zwischen dem Niveau der Abtropffläche am Überlauf und demjenigen des Versuchspräparates. Der Versuch gestaltet sich nun folgendermaßen: nach erfolgter Präparation des Gefäßpräparates wird die Einflußkanüle desselben an den zugehörigen Schenkel des y-Rohres angeschlossen, die Reservoirflasche wird dann auf ein solches Niveau eingestellt, daß die Tropfenzahl am Überlauf pro Minute 10—12 beträgt, denn eine solche Tropfenzahl hat sich auch bei meinen Versuchspräparaten als geeignet erwiesen, wie dies schon von Fleisch angegeben wurde. Durch diese Überlaufmethode wird nun erreicht, daß der Druck, welcher auf dem Versuchsobjekt lastet, unter allen Bedingungen konstant bleibt, und Tonusveränderungen der Gefäße ohne jeden Einfluß auf denselben sind. Daraus folgt anderseits, daß die beobachteten Änderungen des Durch-

[1]) A. Fleisch, Arch. f. d. ges. Physiol. 171, 86. 1918.

flußvolumens durch das Gefäßpräparat einzig und allein auf die Tonusschwankungen der Gefäße zu beziehen sind. Wir registrieren im Versuche die Tropfenzahl der Überlaufmenge auf einer berußten Trommel, wobei mit dem Jaquetschen Chronographen die Sekunden markiert werden. Eine Gefäßkontraktion führt zu einer Vermehrung, eine Gefäßdilatation zu einer Verminderung der Tropfenzahl am Überlauf in derselben Zeit. Die im Experiment erhaltenen Kurven geben somit die Durchflußmenge des Überlaufens, d. h. Gesamtdurchflußmenge minus Durchflußmenge durch das Gefäßpräparat wieder. Die Bildungszeit eines jeden Tropfens kann auf der Kurve auf 0,1 Sek. genau abgelesen werden. Man bestimmt außerdem den Zeitpunkt, in dem ein gebildeter Tropfen fällt, wobei der Ausgangspunkt des Experimentes gleich 0 gesetzt wird. Dieser Zeitpunkt eines gefallenen Tropfens wird jeweils als Abszisse in ein Koordinatensystem eingetragen. Als Ordinate desselben Tropfens berechnet man jene Anzahl Tropfen, welche unter denselben Versuchsbedingungen in einer Minute durch den Überlauf gehen würden. Man dividiert daher die Bildungszeit des Tropfens durch 60. Bei der Konstruktion meiner wiedergegebenen Kurven bin ich so verfahren, daß die Berechnung nicht für alle Tropfen durchgeführt wurde, sondern für diejenigen, welche die charakteristischen Veränderungen der Durchflußmenge wiedergeben. Da, wo nur ganz geringe Schwankungen vorhanden waren, nahm ich das Mittel aus mehreren Tropfen. Auf diese Weise gelangen wir zur Darstellung der Durchflußmenge durch den Überlauf, unser Ziel aber ist die Kenntnis der Durchflußmenge durch das Versuchspräparat. „Wir haben somit noch die Differenz zu bilden zwischen der Gesamtzuflußmenge und der Überlaufmenge. Das geschieht am einfachsten graphisch, indem wir die Kurve einfach um 180° drehen, d. h. auf den Kopf stellen. Haben wir bei der Konstruktion der Kurve die Werte von rechts nach links eingetragen, so entspricht nun die auf den Kopf gestellte Kurve von links nach rechts gelesen der Kurve des Durchströmungsvolumens durch den Frosch. Die Ordinatennullinie geht durch den Kurvenpunkt, welcher gefunden wird, wenn der Abfluß durch den Frosch durch Abklemmen der Zweigleitung unterbrochen, also das Durchflußvolumen gleich null ist" (Fleisch). Ich verweise den Leser über weitere Einzelheiten der Methodik auf die Originalarbeit von Fleisch. Die für meine Versuche verwendeten Nährflüssigkeiten waren folgende:

a) für Warmblüter: 0,9 NaCl; 0,01 $NaHCO_3$; 0,01 $CaCl_2$; 0,01 KCl.
b) für Kaltblüter: 0,7 NaCl; 0,61 $NaHCO_3$; 0,01 $CaCl_2$; 0,01 KCl.

Die Druckwerte, welche für meine Versuche angewandt wurden, sind:

a) für die Totaldurchströmung des Frosches von einer Aorta aus: 30—40 cm H_2O,
b) für die Durchströmung der Splanchnicusgefäße des Frosches 30—40 cm H_2O.
c) für die isolierte Durchströmung der einen Froschlunge 20—30 cm H_2O.
d) für die Hinterextremität des Frosches 20—30 cm H_2O.
e) für die isolierte Durchströmung des Kaninchenohres 50—60 cm H_2O.

Die Injektion der zu untersuchenden Substanzen machte ich hinter der eingeschalteten Glascapillare mit einer Pravatzschen Spritze durch den Gummischlauch. Dadurch wird bei langsamer Injektion jede Störung der Durchflußmenge auch am Überlauf verhindert; auf den Druck, der auf dem Gefäßsystem lastet, hat die Injektion nach dem oben Gesagten sowieso keinen Einfluß. Bei diesem Vorgehen ist aber zu berücksichtigen, daß die Substanz bevor sie zum Gefäßpräparat gelangt, einen Weg zurückzulegen hat, wodurch die Latenzzeit verlängert wird. Außerdem fließt nicht die Gesamtmenge der injizierten Substanz zum Gefäßapparat, da ein Teil durch den kommunizierenden Überlauf geht, der allerdings berechnet werden kann.

Über die Präparation meiner untersuchten Gefäßsubstrate habe ich folgendes zu bemerken. Für die Versuche am isoliert durchströmten Kaninchenohr bin ich nach Rischbieter[1]), für jene am Läwen-Trendelenburgschen Froschpräparate nach Führer verfahren. Für das Läwen-Trendelenburgsche Präparat verwendete ich stets nur eine Hinterextremität, indem ich die in die Aorta abdominalis eingeführte Kanüle in die eine Art. iliaca vorschob. Ich glaube durch dieses Vorgehen eine sichere Gewähr für die Ausschaltung einer Fehlerquelle zu haben, welche darin besteht, daß bei der Präparation der Aorta abdominalis beim Durchtrennen der unteren Art. renales und besonders der Art. mesent. post. undichte Stellen entstehen, welche beim Einbinden der Kanüle nur in die Aorta evtl. nicht abgeschlossen werden. Die Durchströmung des Gesamtfrosches, nach Zerstörung von Gehirn und Rückenmark habe ich durch Einführen einer Kanüle in die Aorta des einen Truncus arteriosus ausgeführt. Dabei hat man sich zu überzeugen, daß die Kanüle wirklich in die Aorta und nicht evtl. in den Canalis communis bzw. in den Canalis pulmo-cutaneus des dreiteiligen Truncus zu liegen kommt. Die Verwendung der Binokularlupe von Zeiß hat mir für diese Zwecke sehr gute Dienste geleistet. Bei dieser Lage der Kanüle in der einen Aorta wird der ganze Frosch durchströmt, mit Ausnahme der beiden Lungen. Denn einmal kommunizieren die beiden Aortae, wodurch die gegenseitige obere Körperhälfte durch Rückfluß durchströmt wird, und außerdem bestehen Kollateralen zwischen der Aorta und dem Canalis carotis communis. Die Injektion von Methylenblau überzeugte mich von dem richtigen Funktionieren dieser Kollateralen. Der Ausfluß in diesen Versuchen ging durch den eröffneten rechten Vorhof und die freigelegte Vena abdominalis.

Die Präparation der isoliert durchströmten Froschlunge gestaltet sich folgendermaßen: Der Frosch mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark wird in Rückenlage auf einem Korkbrett befestigt, das Sternum entfernt, sowie das Perikard möglichst weit entlang des einen Truncus arteriosus freipräpariert. Die drei Verzweigungen dieses Truncus arteriosus: Aorta, Canalis communis und Canalis pulmo-cutaneus werden vorsichtig und übersichtlich isoliert. Sodann die vom Canalis pulmo-cutaneus abgehende Art. cutanea magna freipräpariert und unterbunden. Am Ursprung des

---

[1]) W. Rischbieter, Zeitschr. f. exp. Med. 1, 355. 1913.

betreffenden Truncus wird nun ebenfalls eine Ligatur angelegt, der Truncus am Faden hochgehalten, der Canalis pulmo-cutaneus eröffnet und die feine Kanüle eingeführt und festgebunden. Der Ausfluß geschieht durch den eröffneten linken Vorhof. Trotz der Feinheit der anatomischen Verhältnisse gelingen diese Manipulationen mit etwas Übung und bei Verwendung der Binokularlupe sicher. Die vorher mit O_2-gesättigtem Froschringer gefüllte Kanüle (Luftblasen!) wird nun an die oben beschriebene Apparatur angeschlossen. Zur Kontrolle, daß ausschließlich die betreffende Lunge durchströmt war, habe ich mich am Schlusse jedes Versuches davon überzeugt, daß die Durchflußmenge bei Abschluß des zum Gefäßpräparat führenden Schenkels, also die Totaldurchflußmenge durch das ganze System, dieselbe war, wie bei Unterbindung der Art. pulmonalis, in welcher die Kanüle lag. Ein solches Lungenpräparat zeigt während ca. 2 Stunden eine ziemlich konstante Durchflußmenge und gute Erregbarkeit. Darauf nimmt die Durchflußmenge in der Regel spontan ab, wohl zufolge des eintretenden Ödems.

I. Experimentelle Untersuchungen über allgemeine Eigenschaften überlebender Gefäßstreifen und über die Leistungsfähigkeit der Gefäßstreifenmethode für den Nachweis vasotonisierender Substanzen.

A. Untersuchungen über den Tonus an isolierten Gefäßstreifen.

Die Existenz eines Tonus, d. h. eines dauernden mittleren Kontraktionszustandes der Gefäße ist vom physiologischen Standpunkte aus eine theoretische Forderung, denn nur durch die Möglichkeit von Querschnittsveränderungen nach zwei Richtungen, durch Erhöhung bzw. Erniedrigung des normalen Gefäßtonus erreichen wir eine rationelle periphere Regulierung der Blutverteilung im Gesamtorganismus. Durch die peripheren Vorgänge lokaler Verengerung oder Erweiterung des Gefäßvolumens können einerseits die Blutdruckverhältnisse im ganzen Zirkulationssystem nivelliert werden und anderseits wird auf diese Weise das Gefäßsystem dem verschiedenen Blutbedürfnis der einzelnen Organgebiete bzw. Organe gerecht. Einen solchen normalen Tonus müssen wir auf Grund der experimentellen Daten nicht nur für die Arterien, sondern wahrscheinlich auch für die Capillaren [Steinach und Kahn[1])] und Venen [Goltz[2]), Cavazzini und Manca[3]) und Velich[4])] annehmen. Die ursächlichen Momente für das Zustandekommen und die Aufrechterhaltung dieses mittleren Tonuszustandes im lebenden Organismus sind teils zentraler, teils peripherer Natur. Der zentrale Einfluß auf den Gefäßtonus erhellt aus dem Vorhandensein und der nachgewiesenen Bedeutung der Gefäßzentren in der Medulla oblongata und im Rückenmark. Die etappenweise

[1]) Steinach und Kahn, Arch. f. d. ges. Physiol. 97, 10. 1903.
[2]) Goltz, Virchows Archiv 29, 399. 1864.
[3]) Cavazzini und Manca, Arch. ital. de Biol. 24, 33. 1895.
[4]) Velich, Arch. f. d. ges. Physiol. 95, 264.

Ausschaltung dieser bulbären und spinalen Gefäßzentren führt bekanntlich zu einem vorübergehenden Abfall des Gefäßtonus. Die Tatsache aber, daß nach einem gewissen Zeitintervall eine mehr oder weniger vollkommene Erholung eintritt, spricht für die Annahme von peripheren Faktoren, welche den Gefäßtonus zu beeinflussen vermögen. Asher[1]), welcher diesen Gegenstand in einem zusammenfassenden Artikel behandelt, kommt zu keiner endgültigen Entscheidung und schließt folgendermaßen: „Der Tonus der Blutgefäße wird unterhalten durch die Einwirkung des zentralen Nervensystems auf periphere Einrichtungen in den Gefäßen; fällt diese Einwirkung weg, so können in der Peripherie sich allmählich Zustände ausbilden, welche die vom Zentralnervensystem unabhängige Entstehung des Gefäßtonus gewährleisten“. Zu einem ganz analogen Schlusse gelangt Hofmann[2]). Langley hat ferner in eklatanter Weise nachgewiesen, daß ein Gefäßtonus nach Ausschaltung der sympathischen Ganglien als periphere tonische Zentren durch Lähmung mit Nicotin erhalten bleibt, wodurch wohl in einwandfreier Weise dargelegt ist, daß die Blutgefäße selbst die Eigenschaft für die Aufrechterhaltung eines gewissen Tonus in sich bergen. Die Gefäße besitzen somit in sich die erforderlichen Bedingungen für einen gewissen selbständigen Tonus, welcher durch nervöse Einflüsse von Zentren fördernd oder hemmend beeinflußt bzw. reguliert wird. Die Existenz eines Gefäßtonus und die Erzielung von Tonusschwankungen nach vollständiger Ausschaltung des Zentralnervensystems einschl. des autonomen Nervensystems ist aber heute nicht nur in vivo dargetan, sondern die Untersuchungen von Mac William[3]), O. B. Meyer[4]) u. a. haben ergeben, daß überlebende Gefäße auf verschiedene Reizarten eine große Reaktionsfähigkeit aufweisen.

Diese Untersuchungsmethode wurde bisher für die Frage des peripheren Gefäßtonus sozusagen nicht verwertet. Tatsächlich haben meine Untersuchungen ergeben, daß überlebende Arterienstreifen unter gewissen Versuchsbedingungen einen dauernden Tonus einnehmen können. Unsere Aufgabe wird es nun sein, diejenigen einflußreichen Faktoren zu charakterisieren, welche für das Zustandekommen und die Aufrechterhaltung eines solchen Gefäßtonus am überlebenden Organ erforderlich sind, wie er analog in einem vom Zentralnervensystem beraubten Gefäßgebiete in vivo existieren dürfte. Ich beschreibe im folgenden kurz das Vorgehen, wie ich es für die Erzielung eines Tonuszustandes an

[1]) Asher, Ergebnisse der Physiologie Asher und Spiro. 1. Jg. 2. Abt. S. 372. 1902.

[2]) Hofmann, Nagels Handbuch der Physiologie des Menschen 1 287. 1909.

[3]) Mac William, Proceed. of the Royal Soc. of London. 69, 190—193 1901. 70, 109—153. 1902.

[4]) O. B. Meyer, Zeitschr. f. Biol. 48, 352—397. 1906.

einem überlebenden Gefäßstreifen als notwendig erachte, um dann diejenigen Punkte speziell zu berücksichtigen, welche sich nach meinen Erfahrungen als wesentlich erwiesen haben.

Ein Arterienring, vom umgebenden Gewebe sorgfältig befreit, wird quer durchschnitten und in den oben kurz skizzierten Apparat eingespannt. Unter einer angemessenen Belastung, bei einer Temperatur von 38—39°, in O_2-gesättigtem Ringer, erfährt der

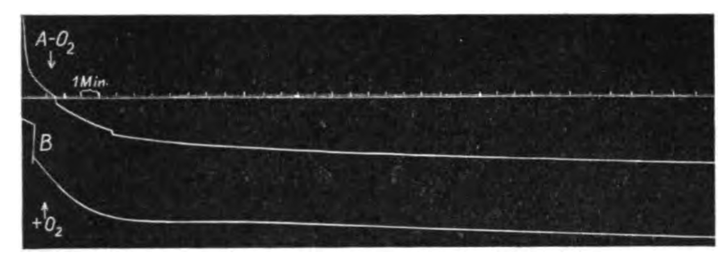


Abb. 1a.

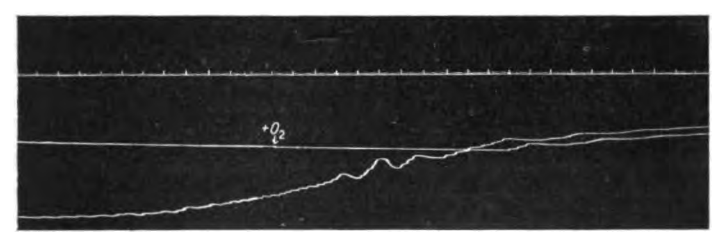


Abb. 1b.

Abb. 1a und b. Die beiden Gefäße stammen von derselben Arteria mesenterica einer Kuh. Die Belastung beträgt je 20 g. Das Gefäß *B* befindet sich von Beginn des Experimentes in mit O_2-gesättigtem Ringer, welcher außerdem fortwährend mit O_2 durchperlt wird. Das Gefäß *A* dagegen ist in O_2-armem, gewöhnlichem Ringer, es wird erst bei der Marke + O_2 Sauerstoff zu dessen Ringerlösung zugeströmt. Beide Gefäße dehnen sich erst rasch, dann langsamer (Dehnungsphase). Das Gefäß *B* beginnt die Kontraktionsphase zu Beginn der Abb. b, und erreicht am Schlusse der Kurve die Phase des mittleren Tonuszustandes. Zufolge des O_2-Mangels bleibt das Gefäß *B* länger dilatiert, tritt aber nach Zufluß von O_2 eben falls in die Kontraktionsphase ein. Verkl. $^1/_2$.

Gefäßstreifen Veränderungen, welche wir in drei Phasen aufteilen können. In einer ersten Phase dehnt sich das Gefäß erst rasch, dann immer langsamer bis zu einem Maximum; es ist dies die Phase der eigentlichen Dehnung des Gefäßes. Es folgt die zweite Phase, charakterisiert durch einen in der Regel erst langsamen, dann rascher werdenden Anstieg des Schreibhebels, d. h. das Gefäß verkürzt sich bis zu einem gewissen Grade, es ist dies die Kontraktionsphase. Bei konstanter Innehaltung der erwähnten Versuchsbedingungen wird nun das Gefäß in diesem

verkürzten Zustande stundenlang verweilen, oder um diesen mittleren Kontraktionszustand durch mehr oder weniger ausgeprägte Schwankungen pendeln. Es stellt dies die dritte Phase bei der Einstellung eines überlebenden Gefäßstreifens in einen Tonuszustand dar, es ist die endgültige Phase des mittleren Tonus. Das Gesagte wird klar durch die Abb. 1a und b illustriert.

Für die Einstellung eines isolierten Gefäßstreifens in einen mittleren Tonuszustand spielen folgende Faktoren eine wesentliche Rolle:

1. Die Art und Weise der Dehnung des Gefäßes,
2. der Einfluß der Temperatur und
3. der Einfluß des Sauerstoffes.

Diese 3 Faktoren sollen eine nähere Analyse erfahren.

1. Die Dehnung des Gefäßstreifens.

Nach Mac Williams[1]) Untersuchungen über die Eigenschaften der isolierten Gefäße tritt kurz nach dem Tode des Tieres an denselben ein hypertonischer Zustand auf. Die Bedingungen für das Zustandekommen dieses Hypertonus sind nach Mac William: mechanische Reizung, Abkühlung, oder Berührung mit der Luft. Dieser postmortale hypertonische Zustand kann nach diesem Autor bis zu 14 Tagen nach der Entnahme des Gefäßes aus dem Organismus sich erhalten, dabei bleiben angeblich diese Gefäße auf mechanische und elektrische Reize erregbar. Dieser hypertonische Kontraktionszustand ist auch von andern Autoren konstatiert worden, welche mit isolierten Gefäßen arbeiteten. Ich kann dies insofern bestätigen, als ein brauchbares Testobjekt nur unter der Bedingung einer geeigneten Dehnung der aus dem Organismus isolierten in Ringerlösung im Eisschrank aufbewahrten Gefäße zu erreichen ist. Denn die Lösung dieses Hypertonus ist für die Erzielung einer normalen Erregbarkeit eines solchen Gefäßstreifens unbedingt notwendig. Mac William hält das Ausfrierenlassen in einer Kältemischung für das geeignete Vorgehen, welche Methode auch von Grützner und Du-Bois-Reymond empfohlen wurde. Dieses Vorgehen ist nicht nur unbequem, weil es Stunden dauert und deshalb ein frisches Gefäß überhaupt nicht untersucht werden kann, sondern nach meinem Dafürhalten auch unphysiologisch. O. B. Meyer[2]) empfiehlt eine Dehnung der Gefäße unter hoher Belastung, so für eine Rinderkarotis mit 85 g in warmer Ringerlösung während ca. 15 Min. Dabei verlängern sich die Gefäße z. B. von 8,5 mm auf 22—23 mm. Meyer gibt an, daß eine Retraktion nach Verringerung der Belastung auf 6—8 g fast gar nicht eintrat, wir werden später sehen, warum. Ähnlich wie Meyer

[1]) Mac, William, l. c. S. 226.

[2]) O. B. Meyer, loc. cit. S. 226.

sind Full[1]) und Günther[2]) verfahren. Siccardi[3]) und Loredan haben systematische Versuche mit Dehnung bei hoher und niedriger Belastung in mit O_2-gesättigtem Ringer bei 40° durchgeführt. Die Autoren geben dem letzteren Verfahren entschieden den Vorzug, wegen der größeren erzielten Erregbarkeit der Gefäße. Meine Erfahrungen sprechen ganz im Sinne von Siccardi und Loredan. Ich verwende daher je nach der Dicke und Länge der Gefäßstreifen ein Gewicht von 2—25 g und dehne das Gefäß in O_2-Ringer bei 39°. Zur Versuchslösung lasse ich kontinuierlich einen O_2-Strom in kleinen Bläschen hinzuperlen. Nun warte ich, bis das Gefäß in die dritte Phase der oben beschriebenen Tonuseinstellung eingetreten ist, d. h. sich im Zustande eines mittleren Tonus befindet. Dies ist graphisch in der Abb. 1 a und b wiedergegeben. Die Dauer einer solchen Dehnung bzw. Einstellung in den mittleren Tonuszustand beträgt ca. 1 Stunde. Die Lösung des postmortalen Hypertonus durch eine so hohe Belastung, wie dies besonders von Meyer angegeben wurde, halte ich aus verschiedenen Gründen für ungeeignet. Denn es zeigte sich, daß die nach Meyer gedehnten Gefäße in ihrer funktionellen Leistungsfähigkeit in qualitativer wie quantitativer Hinsicht den nach meiner Methode behandelten nachstehen. Die Gefäße fand ich nicht nur allgemein unempfindlicher, sondern als besonders mangelhaft empfand ich das meist völlige Fehlen der Möglichkeit einer Erschlaffung der Gefäße auf einen vasodilatatorischen chemischen Reiz. Die Gefäße werden eben durch die hohe Belastung sozusagen maximal gedehnt, es fehlt somit ein anständiger Tonus. Dies geht auch in gewissem Grade aus den Angaben von Meyer hervor, da bei den auf seine Weise gedehnten Gefäßen auch nach der teilweisen Entlastung in den meisten Fällen keine sekundäre Retraktion eintrat. Das Fehlen eines mittleren Tonus beim isolierten Gefäß müssen wir aber als ein Manko betrachten, da den physiologischen Verhältnissen widersprechend, wo wir auch nach vollständiger Ausschaltung der nervösen Innervation noch einen mehr oder weniger ausgesprochenen Tonus bei den Gefäßen besitzen. Eine weitere Ursache der sekundären Retraktion werden wir soeben kennen lernen. Die von Meyer empfohlene hohe Belastung zur Dehnung der Gefäße mag auf Grund einer Anlehnung an die Spannungsverhältnisse in vivo theoretisch stimmen, eine plötzliche, so hohe Belastung eines isolierten Arterienstreifens, der aus seinem natürlichen, stützenden Bett entfernt, der normalen Ernährung und jeder nervösen Beeinflussung beraubt ist, halte ich aber für wenig schonungsvoll. Das Experiment hat mir auch ferner gezeigt, daß in praxi eine solche Behandlung keine optimale Versuchsbedingungen in qualitativer und quantitativer Hinsicht schafft.

2. Der Einfluß der Temperatur.

Die Dehnung der isolierten Gefäße, wie sie soeben beschrieben wurde, trifft nur unter der Bedingung zu, daß wir bei einer Tem-

[1]) Full, Zeitschr. f. Biol. **61**, 287. 1913.

[2]) Günther, Zeitschr. f. Biol. **65**, 401. 1915.

[3]) Siccardi und Loredan, Zeitschr. f. allg. Physiol. **15**, 85. 1913.

peratur von 38—39° arbeiten. Bei niedrigeren Temperaturen geht die Dehnungsphase viel langsamer vor sich und ist nicht so intensiv. Der postmortale Hypertonus wird gewissermaßen nicht genügend gelöst. Die folgende „Kontraktionsphase“ ist dementsprechend viel schwächer ausgeprägt und tritt später ein. Das Gefäß ist unter diesen Umständen in einem hohen Tonuszustande, ist aber was uns mehr interessiert, viel weniger empfindlich als bei einer Einstellung bei 38—39°. Oberhalb dieser Temperatur zeigen die zwei ersten Phasen keine wesentlichen Änderungen, als daß sie rascher verlaufen. Das Gefäß verkürzt sich aber allmählich und kontinuierlich weiter und zwar um so stärker, je höher die Temperatur ist. Untersucht habe ich dies bis auf 45°. Die Erregbarkeit ist bis zu dieser Temperatur noch vorhanden, aber je höher die Temperatur, desto geringer und flüchtiger ist dieselbe. Der Einfluß auf die Tonuseinstellung zeigt sich ferner eklatant in folgendem Versuche. Ein nach meinen Angaben belastetes Gefäß wird in mit O_2-gesättigtem Ringer eingespannt und man läßt außerdem O_2 zuperlen. Die Temperatur sei zu Beginn auf 15°. Nun wird der Thermostat allmählich auf 39° eingestellt Das Gefäß erweitert sich erst beim Erwärmen langsam und ziemlich konstant bis zu einer Temperatur von ca. 20°, dann wird die Dehnung rascher, bis zu einer Temperatur von ca. 30°. Darauf beginnt das Gefäß sich mehr oder weniger rasch zu kontrahieren und verbleibt bei 39° bei dem erreichten Tonuszustande. Es ist dies ein Befund, wie er in ähnlicher Weise von O. B. Meyer[1]) und Cow[2]) beschrieben worden ist. Wir sehen aus allen diesen Angaben, daß die Einstellung isolierter Gefäßstreifen in den mittleren Tonuszustand auch von der Temperatur abhängig ist, und die Körpertemperatur sowohl für den mittleren Tonus als für eine „normale“ Reaktionsfähigkeit die geeignetste erscheint.

3. Der Einfluß des Sauerstoffes.

Der dritte wesentliche Faktor für die Einstellung isolierter Gefäße in einen mittleren Tonus ist die Versorgung desselben mit Sauerstoff. Der Dehnung des Gefäßes folgt nach meinen obigen Angaben (Abb. 1a u. b) die Kontraktionsphase, deren Ausbleiben

[1]) B. O. Meyer, l. c. S. 226.
[2]) D. Cow, Journ. of physiol. 42, 125. 1911.

beim Vorgehen nach O. B. Meyer als typisch erwähnt wurde. Ich betrachte diese Retraktion des Gefäßes für ein wichtiges Kriterium bei der richtigen Einstellung eines isolierten Gefäßes in den mittleren Tonuszustand. Ich lege um so größeres Gewicht darauf, als keiner der früheren Autoren darauf genügend Augenmerk legte. Das Ausbleiben dieser „sekundären Retraktion" bei O. B. Meyer hat seinen Grund nicht nur in der starken Dehnung der Gefäße, sondern ist vielleicht noch mehr auf das Fehlen eines unbedingt notwendigen Sauerstoffdruckes in der Versuchsflüssigkeit zu suchen. Von Mac William[1]), Bayliss[2]), Meyer[3]), Full[4]), Günther[5]), Loening[6]) u. a. ist der tonuserhöhende Einfluß des Sauerstoffes auf überlebende Arterienstreifen beobachtet worden. Meyer und Full fanden das O_2-Bedürfnis solcher Gefäße gering und Loening schließt auf Grund seiner Versuche auf S. 120: „Sauerstoff vermag nur in Plasma oder Serum eine stärker tonisierende Wirkung auf die überlebende Gefäßwand auszuüben. In Ringerlösung kommt diese seine vasotonisierende Wirkung fast gar nicht zur Geltung." So überflüssig es mir auf Grund der bestehenden Daten über den Einfluß des O_2 auf isolierte Gefäße erschien, eine schon bekannte Sache neu zu entdecken, veranlaßten mich Loenings Ergebnisse doch systematische Untersuchungen über diesen Gegenstand vorzunehmen, und ich gelangte dabei zu neuen Resultaten, welche die Bedeutung des Sauerstoffes für die richtige Tonuseinstellung, die Erhaltung des Tonus und die optimale Erregbarkeit und Leistungsfähigkeit isolierter Gefäße dartun. Die Abb. 1a u. b bringt den Unterschied in der Tonuseinstellung von zwei Parallelgefäßen unter verschiedenen Sauerstoffverhältnissen zur Darstellung. Gefäß *A* befindet sich zu Beginn des Versuches in gewöhnlicher, gestandener Ringerlösung, Gefäß *B* dagegen in mit O_2-gesättigtem Ringer, zu welchem außerdem fortwährend O_2 hinzuperlt. Die übrigen Versuchsbedingungen sind ganz identisch. Der Unterschied der beiden Gefäße in ihrem Verhalten ist ganz frappant. Das Gefäß *A*

---

[1]) Mac William, l. c. S. 226.
[2]) W. M. Bayliss, Journ. of physiol. **28**, 220. 1902.
[3]) O. B. Meyer, l. c. S. 226.
[4]) Full, l. c. S. 229.
[5]) G. Günther, l. c. S. 229.
[6]) Loening, Zeitschr. f. Biol. **62**, 541. 1913.

verweilt in relaxiertem Zustande, während Gefäß *B* schon in die zweite bzw. dritte Phase der Tonuseinstellung eingetreten ist. Daß wir die Ursache dieses verschiedenen Verhaltens der beiden Gefäße nur in der verschiedenen O_2-Versorgung zu suchen haben, geht daraus hervor, daß Gefäß *A* unter dem Einfluß von O_2 nun nach einer ziemlich langen Latenzzeit ebenfalls in die Kontraktionsphase eintritt. Die zweite Phase der Tonuseinstellung tritt nur unter der Einwirkung des Sauerstoffes in der Weise selbst bei Gefäßen von 2—5 Tage Alter zur Beobachtung. Ich kann füglich sagen, daß jedes Gefäß, besonders im frischen Zustande und bei sorgfältiger Behandlung demselben Einfluß des Sauerstoffes unterliegt. Es bestehen in dieser Beziehung bei den verschiedenen Gefäßen wohl quantitative Unterschiede, die aber in der Regel mit einer geringeren Erregbarkeit der Gefäße überhaupt zusammenfallen. Wir können auf Grund dieser Erfahrungen sagen, daß der Sauerstoff für die zweite Phase der Tonuseinstellung geradezu das auslösende Moment darstellt. Wenn frühere Autoren diesen Faktor unter den notwendigen Versuchsbedingungen beim Arbeiten mit überlebenden Gefäßen nicht geäußert haben, so liegt die Erklärung in der Tatsache, daß das Vorhandensein eines gewissen Gefäßtonus für eine vollwertige Untersuchung an isolierten Gefäßstreifen nicht berücksichtigt wurde.

Der Einfluß des Sauerstoffes in der dritten Phase, d. h. im Zustande des mittleren Tonus besteht nun darin, daß der einmal eingenommene Tonus des isolierten Gefäßes bei ständiger O_2-Zufuhr zur Versuchsflüssigkeit während Stunden erhalten werden kann. Ja man hat es geradezu in der Hand willkürlich durch mehr oder weniger reichliche O_2-Zufuhr den Tonus zu variieren. Abnahme des O_2-Gehaltes der Versuchsflüssigkeit führt zu einer Tonuserschlaffung, Zunahme desselben zu einer Tonuserhöhung. Das Verhalten überlebender Gefäße gegenüber Sauerstoff in der dritten Phase nach eingenommenem mittleren Tonus ist in den Abb. 2—4 wiedergegeben.

Damit ist eigentlich der Einfluß des Sauerstoffes auf überlebende Gefäßstreifen in Ringerlösung bewiesen. Aber Loenings Auffassung über die Wirkungsweise des Sauerstoffes auf überlebende Gefäße veranlassen mich, diese Analyse weiter zu verfolgen. In der Abb. 2 ist der Einfluß des Sauerstoffes auf isolierte

Gefäßstreifen dargestellt, deren Tonus durch O_2-armen Ringer niedrig gehalten ist. Durch das Zuperlen von ca. 80 Gasbläschen pro Minute erfahren beide Gefäße eine sehr kräftige Tonuserhöhung, die in ihrer Form geradezu einer Gefäßkontraktion gleichkommt. Wenn also Autoren wie Meyer, Full und Loening sagen, daß

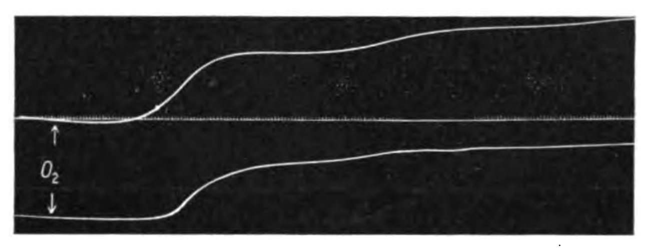


Abb. 2. Art. renalis einer Kuh. Die Belastung beider Gefäße beträgt 25 g. Die Gefäße werden 1 Stunde nach dem Tode des Tieres untersucht. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Beide Gefäße befinden sich zu Beginn der Kurven in O_2-armer Ringerlösung. Bei O_2 wird Sauerstoff zugeperlt. Nach einer Latenzzeit von 2—2½ Minuten tritt eine raschansteigende, kräftige Tonuserhöhung ein, welche geradezu als eine Muskelkontraktion bezeichnet werden könnte. Verkl. ½.

das Sauerstoffbedürfnis überlebender Gefäße nicht nur gering anzuschlagen sei, sondern der Einfluß des O_2 in Ringerlösung fast gar nicht zur Geltung gelange (Loening), so scheint mir durch diese wiedergegebenen experimentellen Daten das Gegenteil bewiesen zu sein. Loening glaubt gewisse Fehlerquellen

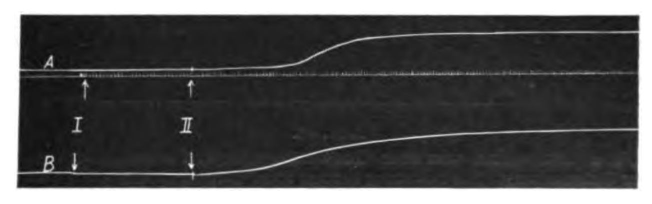


Abb. 3. Art. renalis von 6 jähriger Kuh. Die Gefäße sind 24 Stunden alt. Belastung je 25 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Vor der Marke I befinden sich die Gefäße *A* und *B* in O_2-armer Ringerlösung, bei der Marke I wird diese Versuchsflüssigkeit mit vorgewärmtem O_2-armem Ringer ausgewechselt. Es tritt keine Veränderung des Tonus der Gefäße ein. Bei der Marke II wird ebenfalls mit vorgewärmtem aber O_2-gesättigtem Ringer ausgewechselt, es erfolgt in beiden Gefäßen eine kräftige Tonuserhöhung. Verkl. ½.

nicht ausschließen zu dürfen, wenn man O_2 in die Nährlösung, also zu Ringer, während des Versuches hinzuperlen läßt, indem dabei zwei physikalische Faktoren reizend auf die Gefäße einwirken könnten: nämlich der mechanische Reiz durch die Gasblasen und die Abkühlung durch dieselben. Meine Versuche, wie dies in der Abb. 3 wiedergegeben ist, erlauben aber diese Bedenken ohne weiteres auszuschließen. Denn die Gefäße, welche

in O_2-armem Ringer sich befinden, werden durch den Wechsel mit vorgewärmtem O_2-armen Ringer gar nicht beeinflußt, wohl aber erleiden dieselben durch O_2-gesättigten und vorgewärmten Ringer eine Tonuserhöhung, wie wir dies beim Durchperlen von

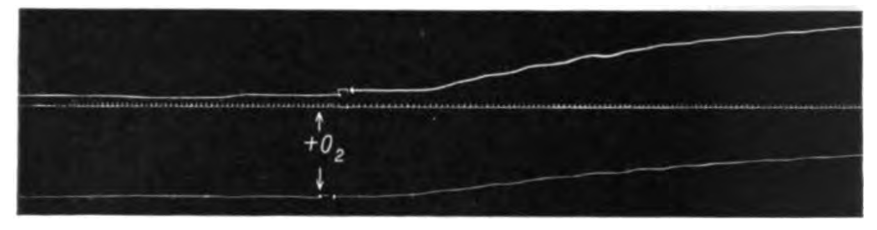


Abb. 4a.



Abb. 4b.

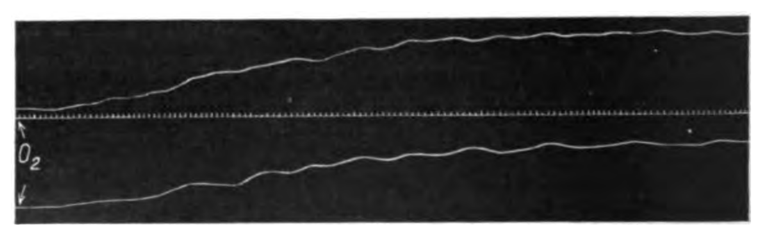


Abb. 4c.

Abb. 4a, b, c. Art. mesent. vom Stier. Die Gefäße gelangen 1 Stunde nach dem Tode des Tieres zur Untersuchung. Die Belastung beträgt 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Abb. a befinden sich die Gefäße in O_2-armem Ringer. Bei + O_2 läßt man Sauerstoff zuströmen, es tritt eine erhebliche Tonuserhöhung unter dem Einfluß des O_2 ein, welche außerdem von rhythmischen Bewegungen begleitet ist. Der O_2-reiche Ringer wird nun durch O_2-armen ersetzt, sodann mit O_2-freiem Blutserum. Die Abb. b zeigt, daß keine Tonuserhöhung erzielt wurde. Bei der Marke O_2 wird zu dem Blutserum als Versuchsflüssigkeit (Abb. c) Sauerstoff zugeperlt, worauf, wie vorher in Ringer, eine Tonuserhöhung mit rhythmischen Bewegungen eintritt. Verkl. $^1/_2$.

O_2 durch den Ringer bewirken können. Diese beiden Faktoren kommen als Fehlerquellen sicher nicht in Betracht, solange der zufließende Sauerstoffstrom nicht in zu großen und allzu zahlreichen Blasen besteht. Ich ließ in meinen Versuchen 60—80 O_2-Bläschen zuströmen. In diesem Zusammenhange müssen wir die Auffassung Loenings über die Wirkung des Sauerstoffes auf überlebende Gefäße, wie sie in obigem Zitat wiedergegeben

ist, weiter besprechen. Die Abb. 4a, b, c geben den Einfluß des Sauerstoffes auf zwei Parallelgefäße in Ringer und in Blutserum wieder. Daraus entnehmen wir mit jeder Deutlichkeit, daß Sauerstoff auf dieselben Gefäße nicht nur in Serum, sondern auch in Ringerlösung eine tonisierende Wirkung hat. Die Kurven der Abb. 4a u. c sind einander nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht sozusagen identisch. Die Latenzzeit, die Art und Größe des Tonusanstieges, selbst die rhythmischen Erscheinungen werden durch den Sauerstoff in Ringer wie in Serum in gleicher Weise beeinflußt. Loenings Ansicht, daß Blutserum sozusagen einen O_2-übertragenden Aktivator enthält, könnte ich somit nur unter dem Vorbehalte teilen, wenn er einen solchen auch für Ringer annehmen würde und dieser Aktivator somit nicht etwa organischer, sondern anorganischer Natur ist. Auf die besondere Wirkung des Sauerstoffes in Blutserum werde ich im speziellen Teile dieser Arbeit zurückkommen. Aus diesen experimentellen Daten dürfen wir schließen, daß der Sauerstoff in Ringerlösung für die Einstellung eines überlebenden Gefäßes in einen mittleren Tonuszustand notwendig ist. Dieser dauernde mittlere Tonuszustand eines solchen Testobjektes in Ringerlösung kann bei geeigneter Belastung und Versuchstemperatur treffend als eine Funktion des Sauerstoffdruckes in der Nährlösung betrachtet werden. Der Tonus eines überlebenden Gefäßstreifens unter diesen Versuchsbedingungen stellt ein labiles Gleichgewicht dar, welches durch ein Plus oder Minus von Sauerstoff gestört wird im Sinne einer Zu- bzw. Abnahme des bestehenden Tonus.

Diese Ergebnisse an isolierten Arterienstreifen von Warmblütern konnte Fleisch[1]) bei seinen Versuchen über den Einfluß des Sauerstoffmangels an der Froschextremität nicht nachweisen, da „Sauerstoffmangel immer eine rasche und intensive Gefäßverengerung auslöst". Hooker[2]) hat aber schon früher bei demselben Versuchsobjekt durch Sauerstoffmangel eine vasodilatatorische Wirkung beobachtet. Es gelang mir nicht, bei einer Nachprüfung dieser widersprechenden Versuchsresultate eine Entscheidung zu erzielen, da ich mit ausgekochtem, wie bei 40°

[1]) A. Fleisch, Arch. f. d. ges. Physiol. 171, 86—133. 1918.

[2]) D. R. Hooker, Amer. journ. of physiol. 28, 361. 1911.

ausgepumptem Ringer, der mit Paraffinöl überschichtet war, sowohl eine ganz geringe Erweiterung oder eine ebenso schwache Verengerung bzw. eine vollständige Indifferenz beobachtete. Die Ursache dieser Differenzen ist mir nicht klar und bedarf einer weiteren Untersuchung. Als zu berücksichtigende Faktoren kommen dabei in Frage: verschiedener Gehalt an Sauerstoff, die Zusammensetzung der Durchströmungsflüssigkeit, besonders die vorliegende (H-)Ionenkonzentration, sodann eine verschiedene Empfindlichkeit der verschiedenen Froscharten. An dem Resultat über den Einfluß des Sauerstoffes auf isolierte Gefäßstreifen von Warmblütern kann der Ausfall einer solchen Untersuchung nichts ändern. Es unterliegt keinem Zweifel, daß der Gefäßtonus nach völliger Ausschaltung der Einflüsse des zentralen und autonomen Nervensystems in vivo unter gewissen Versuchsbedingungen auch an überlebenden Gefäßen von Warmblütern reproduziert werden kann. Als wesentliche Faktoren, welche das Zustandekommen dieses Tonus bedingen, wurde eine angemessene Belastung (bzw. Dehnung) der Gefäße, eine Versuchstemperatur von ca. 38—39° und vor allem eine genügende Sauerstoffversorgung erkannt. Es liegt die Vermutung nahe, daß auch in vivo der Sauerstoff für die Aufrechterhaltung des restierenden Gefäßtonus nach Ausschaltung aller nervösen Einflüsse neben der im Blute normalerweise vorhandenen vasoconstrictorischen Substanzen eine wesentliche Rolle spielt.

B. Über rhythmische Tonusschwankungen bei überlebenden Gefäßen.

Die Frage der Existenz und der Bedeutung von rhythmischen Tonusschwankungen bei Blutgefäßen ist seit der Entdeckung rhythmischer vom Pulse unabhängiger Querschnittsveränderungen von Schiff am Kaninchenohr von zahlreichen Forschern bearbeitet worden. Das Vorkommen solcher rhythmischer Bewegungen der Gefäße kann auf Grund der Ergebnisse als tatsächlich bewiesen erachtet werden. Problematisch dagegen war bis in die neueste Zeit die Lokalisation des Ursprunges dieser rhythmischen Erscheinungen bei den Gefäßen und deren Bedeutung im Dienste der Hämodynamik. Es ist nicht mein Ziel, die Geschichte dieses hämodynamisch wichtigen Untersuchungsgegenstandes hier bibliographisch aufzurollen und ich verweise auf die diesbezüglichen Arbeiten von Hess[1])

---

[1]) W. R. Hess, Arch. f. d. ges. Physiol. 163, 555. 1916. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1914, S. 8. Arch. f. d. ges. Physiol. 173, 243—264. 1919.

und Fleisch[1]). In diesem Rahmen verfolgen wir die rhythmischen Erscheinungen insoweit, als dieselben an überlebenden Gefäßen beobachtet wurden. Das Auftreten von rhythmischen Tonusschwankungen an überlebenden isolierten Arterienstreifen wurde von O. B. Meyer[2]) in seiner ausführlichen Arbeit über die Eigenschaften überlebender Arterienstreifen verneint, „denn sie konnten damals nie auch nicht andeutungsweise“ und zwar weder in Ringer, noch in Blutserum und ebensowenig nach Einwirkung von chemischen Reizen beobachtet werden. Meyer betrachtet das Fehlen von rhythmischen Erscheinungen an diesen Testobjekten als einen wesentlichen Vorzug der Gefäßstreifenmethode gegenüber andern Testobjekten mit ausgesprochener Rhythmik, wie Darm, Uterus usw. Indes konnte Meyer[3]) bald darauf von solchen rhythmischen Gefäßbewegungen am überlebenden Organ berichten und wie er sagt: „fehlen die spontanen rhythmischen Kontraktionen beim Verweilen der Arterien in Ringerlösung. Dagegen kamen sie wiederholt zur Beobachtung, nachdem die Präparate in Blut bzw. in Blutserum längere Zeit eingetaucht waren. Auffallend war hierbei, daß die in Blut suspendierten Präparate wesentlich später mit den Eigenbewegungen begannen und sie auch seltener zeigten.“ Durch Zufuhr von O_2 können nach Meyer die rhythmischen Kontraktionen fast völlig unterdrückt werden. Durch O_2-Mangel, sowie durch indifferente Gase wie Wasserstoff oder Stickstoff kann die Rhythmik gefördert werden. Die vom Autor ausgeführten diesbezüglichen 1—2 Versuche lassen aber keinen bindenden Schluß zu. Meyer führt den Unterschied im Auftreten der rhythmischen Erscheinungen in Blut und im Blutserum ebenfalls auf den verschiedenen Sauerstoffgehalt zurück, und der Autor bezeichnet die rhythmischen Erscheinungen geradezu als „Erstickungskrämpfe“. Full[4]) hat, ebenfalls unter von Freys Leitung, die Untersuchungen Meyers über die rhythmischen Erscheinungen an isolierten Arterienstreifen weiter experimentell verfolgt. Auch er findet die gewöhnlichen Salzlösungen ungeeignet für das Auftreten autonomer Gefäßbewegungen, „nur Serum bzw. unbekannte Bestandteile desselben sind imstande, die für die automatischen Bewegungen maßgebenden Strukturen längere Zeit am Leben zu erhalten“. Full glaubt, daß die Gefäße durch O_2-arme Tauchflüssigkeit in einen Zustand hoher Erregbarkeit geraten, wobei dann ein beliebiger Reiz „besonders ein tonisierender Anstoß wie H_2O-Zusatz, ein elektr. Reiz usw. geeignet ist, spontane Rhythmik auszulösen“. Ich möchte bemerken, daß wir nicht mehr von Spontaneität sprechen können, wenn ein vasotonisierender Reiz für die Auslösung der Rhythmik notwendig ist. Ich verstehe aber nicht, wie Full diese „spontanen“ Bewegungen eher als Erstickungserscheinungen, denn normale Tonusschwankungen betrachten kann, da der Autor das Fortbestehen von Rhythmik bei Sauerstoffzufuhr

[1]) Fleisch, Schweiz. med. Wochenschr. 1920, Nr. 24.

[2]) O. B. Meyer, l. c. S. 226.

[3]) O. B. Meyer, Zeitschr. f. Biol. **61**, 275—286. 1913, und Zentralbl. f. Physiol. **23**, 685. 1909.

[4]) H. Full, l. c. S. 229.

konstatiert. Die Auslegung der Resultate von Meyer und von Full, sowie der Versuchsbedingungen für das Auftreten von rhythmischen Erscheinungen an isolierten Arterienstreifen scheinen mir sehr unsicher zu sein. Günther[1]) verwendete für seine Untersuchungen über rhythmische Erscheinungen an überlebenden Gefäßstreifen Carotiden von Pferden. Rhythmik tritt nach Günther „mit staunenswerter Regelmäßigkeit" und während Stunden auf, wenn der Ringerlösung, der an sich für rhythmische Bewegungen untauglichsten Versuchsflüssigkeit, Blut oder Adrenalin, wenn auch nur in ganz minimalen Dosen zugesetzt wird. Günther ist geneigt, das Vorhandensein solcher rhythmischer Kontraktionen an Arterienstreifen geradezu als ein Kennzeichen ihrer vollen Lebenstätigkeit zu betrachten. Sauerstoff ist nach diesem Autor für die Erscheinungen ohne wesentlichen Einfluß. Müller[2]) berichtet von einem Fall rhythmischer Tonusschwankungen bei einem vorerst mit Yohimbin behandelten 24 Stunden alten Gefäßstreifen. Weiterhin haben De Bonis und Susanna[3]) in Ringer nie, dagegen nach chemischer Reizung überlebender Gefäße rhythmische Bewegungen auftreten gesehen. Auch Siccardi und Loredan[4]) waren häufig in der Lage nach Reizung mit Organextrakten: Hypophyse, Thymus, Niere, Ovarium, Testikel, Thyreoidea und Uterusmukosa an solchen Gefäßen rhythmische Tonusschwankungen auszulösen. Loenings[5]) Erfahrungen decken sich mit jenen von Meyer und Full, die spontanen Bewegungen isolierter Gefäßstreifen sind nach ihm ebenfalls als Erstickungskrämpfe zu betrachten. Endlich berichtet Cow[6]) von rhythmischen Kontraktionen, deren Analyse der Autor in seiner Arbeit unterläßt. Aber auf Grund der Frequenz der Rhythmik an isolierten Gefäßen glaubt der Autor, daß die sog. Traube-Heringschen Wellen evtl. nicht zentral, sondern peripher in den Gefäßen selbst bedingt sind. Ich gebe in folgendem erst einige Beispiele meiner diesbezüglichen Beobachtungen, um zum Schlusse meine Resultate mit jenen anderer Autoren vergleichend zu diskutieren.

Unter den oben ausgeführten Versuchsbedingungen für die Einstellung eines isolierten Gefäßstreifens in den „mittleren Tonuszustand" ist es ein sehr häufiger aber kein regelmäßiger Befund, daß wir rhythmische Tonusschwankungen registrieren können. Als ein wesentliches Resultat meiner Untersuchungen über rhythmische Bewegungen an überlebenden Arterienstreifen betrachte ich den Befund, daß Sauerstoff das Auftreten dieser Bewegungen nicht hemmt, sondern im Gegenteil fördert. Ich verweise auf die Abb. 6 u. 7, welche eklatante Beispiele dafür sind.

[1]) G. Günther, l. c. S. 229.
[2]) Fr. Müller, Arch. f. Anat. u. Physiol. Suppl. **1906**, S. **411—425**.
[3]) De Bonis und Susanna, Zentralbl. f. Physiol. **23**, **169**. **1909**.
[4]) Siccardi und Loredan, l. c. S. 229.
[5]) Loening, l. c. S. 231.
[6]) D. Cow, Journ. of physiol. **42**, 125. 1911

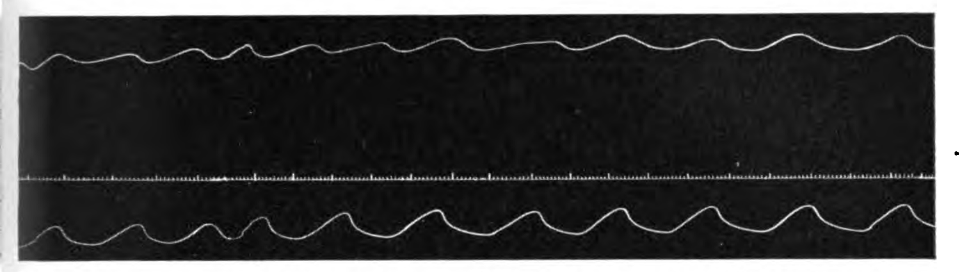


Abb. 5. Art. mesent. einer Kuh. Die Gefäße sind ca. 24 Stunden alt und wurden im Eisschrank in O_2-Ringer aufbewahrt. Die Belastung der Parallelgefäße beträgt je 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. In der Abbildung wurden die Minuten stärker hervorgehoben. Die Gefäße befinden sich in einem mittleren Tonuszustand in mit O_2 gesättigtem Ringer, es perlen zudem 80 O_2-Bläschen pro Minute zur Versuchsflüssigkeit. Beide Gefäße zeigen eine ausgesprochene, ziemlich regelmäßige rhythmische Tätigkeit. Die Maße betragen 16 mm Länge und 10 mm Breite. Die maximale Kontraktionshöhe des unteren Gefäßes beträgt 10 mm, red. 2 mm, da die **Vergrößerung durch die Hebelübertragung 5 ist. Das Gefäß verkürzt sich somit um 1/8, d. h. um ca. 13% seiner Länge. Verkl. 1/3.**



Abb. 6. Art. mesent. einer Kuh. Das Gefäß ist frisch. Belastung 15 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Versuchsflüssigkeit ist Ringerlösung. Zu Beginn der Kurve befindet sich das Gefäß in O_2-armem Ringer. Bei der Marke O_2 wird Sauerstoff zum Ringer hinzugeperlt, ca. 80 Bläschen pro Minute. Nach einer langen Latenzzeit erfolgt eine kleine Kontraktion, die rasch von einer zweiten viel stärkeren gefolgt ist. Die weiteren Kontraktionen sind ungefähr von derselben Hubhöhe. Außer diesem Rhythmus ist eine Zunahme des Tonus zu erkennen. Die Gefäßmaße betragen: 12 mm Länge und 8 mm Breite. Die maximale Verkürzung beträgt 22 mm, red. 4,4 mm, d. h. in Prozenten 36,66. Verkl. 1/3.

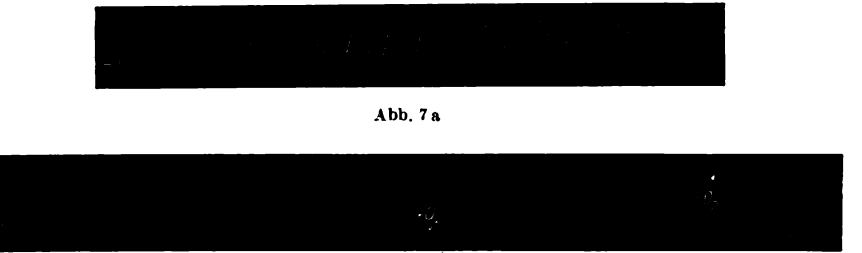


Abb. 7a

Abb. 7b.

Abb. 7a und b. Art. renalis einer Kuh. Das Gefäß ist 24 Stunden alt. Belastung beträgt 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Das Gefäß ist seit 5 Stunden im Apparat eingespannt und zeigt gegenüber Adrenalin eine gute Erregbarkeit. Zwei Stunden vor dem Auftreten dieser rhythmischen Kontraktionen führte das Gefäß auf Zusatz von n-HCl 1 : 200 eine kräftige Kontraktion aus. Der Sauerstoffgehalt ist zu Beginn vorliegender Kurve gering, dieser wird durch erhöhten Zufluß zum Versuchsgläschen erhöht. Die rhythmischen Erscheinungen werden dadurch allmählich rascher und von geringerer Amplitude. Gleichzeitig steigt der Tonus des Gefäßes. Zu Beginn der Abb. b wird der Sauerstoffstrom abgestellt. (— O_2.) Der Tonus sinkt, die Frequenz des Rhythmus wird geringer und die Hubhöhe immer kleiner. Erneuter Zufluß von O_2, bei der Marke + O_2 hat wieder das Auftreten von Rhythmus und Tonusanstieg zur Folge, Abstellen des Sauerstoffstromes bei — O_2 dagegen Aufhören des Rhythmus und Tonuserschlaffung. Verkl. 1/3.

In sauerstoffarmem Ringer (Abb. 6) ist das Gefäß erschlafft und ohne Rhythmus, nach Zuleitung von Sauerstoff tritt neben der Tonuserhöhung eine äußerst kräftige rhythmische Tätigkeit auf. ohne daß die äußeren Versuchsbedingungen irgendeine andere Veränderung erfahren. Die Kuıven der Abb. 7 zeigen uns dies noch in schönerer Weise. Ebenda sehen wir außerdem, daß dieser fördernde Einfluß des Sauerstoffes sich sehr leicht bei demselben Gefäße mehrmals wiederholen läßt. Die Parallelgefäße der Abb. 5 befinden sich ebenfalls in mit O_2 gesättigter Ringerlösung, und wir erkennen, daß die beiden Gefäßstreifen von derselben Arterie hinsichtlich ihrer rhythmischen Tätigkeit sehr gleichartig sind. Frequenz und Amplitude weisen nur geringe Unterschiede auf. Es kann kein Zweifel bestehen, daß bei solchen experimentellen Ergebnissen der Sauerstoff für die rhythmische Tätigkeit isolierter Arterienstreifen entschieden als fördernder Faktor angesprochen werden muß. Ja, dieser Einfluß des Sauerstoffes scheint nicht nur ein fördernder, sondern für unsere Versuchsbedingungen als ein notwendiger Faktor für das Auftreten von rhythmischer Tätigkeit bei isolierten Arterienstreifen zu sein. Da alle bisher erwähnten Beispiele von Rhythmus sich auf Ringerlösung als Versuchsflüssigkeit beziehen, dürfen wir ebenso sicher schließen, daß rhythmische Tonusschwankungen bei überlebenden Gefäßstreifen in mit O_2-versorgter Ringerlösung auftreten. Es liegt nach meinen sehr zahlreichen Versuchen gar kein Grund vor, diese rhythmischen Tonusschwankungen bei isolierten Gefäßstreifen im Sinne von Meyer, Full und Loening mit dem O_2-Mangel der Versuchslösung in einen genetischen Zusammenhang zu bringen. Ich kann auch nicht mit Günther annehmen, daß Sauerstoff diese Erscheinungen nicht beeinflußt. Alle meine Ergebnisse veranlassen mich zur Ansicht, daß der Sauerstoff einen fördernden Einfluß für das Auftreten und das Bestehen von rhythmischen Tonusschwankungen bei isolierten Arterienstreifen ausübt. Parallel zu der Erscheinung der Tonuserhöhung durch Sauerstoff geht eine fördernde Beeinflussung der rhythmischen Tätigkeit auf isolierte Gefäßstreifen. O_2-Mangel dagegen setzt einen bestehenden mittleren Tonus eines Gefäßstreifens herab und schwächt gleichzeitig vorhandene rhythmische Schwan-

kungen in ihrer Intensität ab und bringt sie evtl. vollständig zum Verschwinden (Abb. 7). Wenn Günther diese Erscheinung nicht ebenfalls konstatierte, so liegt der Grund voraussichtlich in dem Umstande, daß der Autor durch bloßes Abstellen der O_2-Durchleitung zur Versuchslösung den notwendigen Grad der O_2-Verarmung in der aufgewandten Versuchsdauer nicht erreicht oder wenig empfindliche Gefäße vor sich hat. Dies scheint mir um so wahrscheinlicher als in seinem wiedergegebenen Versuche auf S. 410 der Tonus des Gefäßes durch Abstellen der O_2-Durchleitung nur ganz unwesentlich herabgesetzt wird.

Diese rhythmischen Tonusschwankungen in Ringerlösung, wie sie hier geschildert wurden, waren, wie schon erwähnt, keineswegs regelmäßig, jedoch sehr häufig, zeigten aber in ihrem Auftreten die größten Variationen in bezug auf Frequenz sowohl als auf die Amplitude. Die in den Abb. 5—7 wiedergegebenen Beispiele gehören zu den gelungensten Versuchen, wie ich sie nur äußerst selten beobachten konnte. Geringe kaum erkennbare Tonusschwankungen, bei der verwendeten 5fachen Hebelübertragung, traten dagegen besonders bei Innehaltung der beschriebenen optimalen Versuchsbedingungen sehr häufig auf. Mit dem Alter der Gefäße nahmen die Intensität und die Regelmäßigkeit des Rhythmus ab. Nach meinen Erfahrungen bestehen auch keine Unterschiede für das Auftreten von solchen rhythmischen Erscheinungen bei den Gefäßen der verschiedenen Körperregionen, da dieselben sowohl bei Art. mes. carotis, coronaris, cordis, pulmonalis, renalis von Pferd und Rindvieh zur Beobachtung gelangten. Wenn aber ein Gefäßstreifen einer Arterie rhythmische Tonusschwankungen aufwies, so konnten solche in der Regel mit Streifen entlang des ganzen Gefäßes erzielt werden, welche aber nicht selten in qualitativer und quantitativer Beziehung variierten. Ein solches Beispiel ist in der Abb. 5 wiedergegeben. Günthers Ansicht, daß bei den Gefäßen gewisse, für Rhythmik prädilektionierte Partien existieren, wie beim Darm, kann ich nicht bestätigen. Diese etwas gesuchte Analogie stützt Günther auf eine ähnliche Lokalisation von Ganglienzellen in den Gefäßen wie beim Darm. Es ist dies eine Annahme, welche bisher der anatomischen Grundlagen entbehrt und durch das Experiment nicht bewiesen ist.

Bei scheinbar absolutem Fehlen von rhythmischer Tätigkeit eines Gefäßstreifens in mit O_2-gesättigtem Ringer konnten solche im Verlaufe der Untersuchungen durch chemische Reize ausgelöst werden. Unter diesen Umständen zeigte sich, daß bei durch einen chemischen Reiz aufgetretenem Rhythmus durch Auswaschen des Gefäßstreifens mit Ringerlösung bzw. durch die Entfernung des Reizes die rhythmischen Tonusschwankungen aufhörten und zwar meist mit einer überraschenden Promptheit. Ebenso sicher wie der Rhythmus durch einen chemischen Reiz sich einstellt, ebenso prompt verschwindet derselbe nach dem Auswaschen des Gefäßes. Dieses Auftreten und Verschwinden des Rhythmus kann mehreremal, mit quantitativen Differenzen allerdings, an demselben Gefäßpräparat wiederholt werden. Nur in jenen Fällen, wo auch vor der Applikation des chemischen Reizes, also in Ringerlösung, schon eine rhythmische Tätigkeit bestand, war dieselbe auch nach dem Auswaschen noch vorhanden. Die Natur des chemischen Reizes spielt offenbar keine wesentliche Rolle, denn alle meine bisher untersuchten tonuserhöhenden Substanzen besitzen die Fähigkeit unter diesen Umständen Rhythmus auszulösen. Dabei treten allerdings qualitative und quantitative Unterschiede in der Rhythmik zutage. Die von mir untersuchten Substanzen sind sowohl anorganischer als organischer Natur, nämlich: KCl (in höheren Konzentrationen) $BaCl_2$, def. Blut, Blutserum, Adrenalin, Hypophysin, Lienin (Milzextrakt), β-Imidazolyläthylamin usw. Aber ich betone, daß Zusatz irgendeines dieser genannten chemischen Reize, in einer tonuserhöhenden Konzentration, nicht stets Rhythmus auslöst, aber wenn einer dieser Reize rhythmische Tätigkeit an einem isolierten Gefäßstreifen in Gang bringt, so können dies mit größter Wahrscheinlichkeit auch alle übrigen. Die rhythmische Tätigkeit der Gefäße scheint somit nicht an chemische Reize von spezifischem Charakter gebunden zu sein. Dabei muß ich allerdings hinzufügen, daß def. Blut bzw. Blutserum von allen erwähnten chemischen Reizsubstanzen am regelmäßigsten und vielleicht am intensivsten wirkt. Ich verweise auf die Abb. 8. Beispiele für die Auslösung von Rhythmus durch chemische Reize sind in den Abb. 8—10 wiedergegeben.

Im Gegensatz zum Auftreten rhythmischer Tätigkeit bei isolierten Gefäßen auf chemische Reize von tonuserhöhendem

Charakter, habe ich bei denselben Gefäßpräparaten im Anschluß an chemische Reize von tonuserniedrigender Wirkung nie die Auslösung von Rhythmus beobachtet. Als solche kommen in Betracht: Sauerstoffmangel, Kohlensäure, Säuren in starken Verdünnungen, KCl in schwacher Konzentration, Adrenalin auf

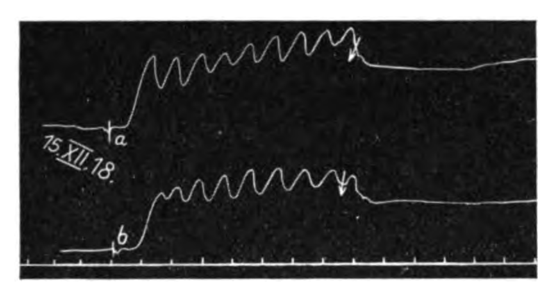


Abb. 8. Art. mesent. einer Kuh. Die beiden Gefäßstreifen sind mit je 15 g belastet. Zeitmarkierung in Minuten. In mit O_2 gesättigtem Ringer besteht kein Rhythmus. Bei der Marke 1 wird (Lienin, alkohol. Milzextrakt) in einer Dosis von 1 : 10 000 hinzugefügt. Es erfolgt in beiden Gefäßstreifen in ganz analoger Weise eine kräftige Tonuserhöhung, welche von einem regelmäßigen ausgesprochenen Rhythmus begleitet wird. Nach dem Auswaschen der Gefäße mit Ringerlösung verschwindet der Rhythmus prompt. Verkl. $^1/_2$.

die Herzkranzgefäße. Ich bringe hier ein Beispiel zur Darstellung in der Abb. 9. Im übrigen verweise ich auf die Abb. 7 für O_2-Mangel S. 239. Die Abb. 9 gibt rhythmische Erscheinungen in mit O_2-gesättigtem Ringer von ganz speziellem Charakter wieder. Man erkennt Tonusschwankungen zweierlei Art, nämlich lange

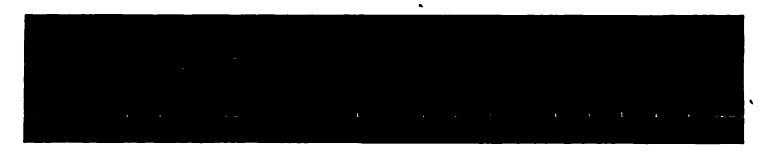


Abb. 9. Art. renalis von einem Rind. Belastung 25 g. Zeitmarkierung in Minuten. Das Gefäß befindet sich in mit O_2 gesättigtem Ringer. Der Tonus nimmt von Beginn der Kurve bis zum Ende zu. Außerdem weist das Gefäß rhythmische Schwankungen auf. Diese sind zweierlei Art: große Schwankungen, auf welchen im aufsteigenden Schenkel kleinere aufgesetzt sind. Am absteigenden Schenkel der großen Tonusschwankungen dagegen sind keine kleinen Erhebungen zu erkennen. Verkl. $^1/_3$.

ausgezogene rhythmische Kontraktionen auf denen kleinere, ebenfalls rhythmische Erhebungen sich nur auf dem aufsteigenden Schenkel der großen Tonusschwankungen befinden, nicht aber auf dem absteigenden Schenkel. Ebenso gelingt es, nachzuweisen, daß KCl in geringer Dosis einen in Ringer bestehenden Rhythmus zum Verschwinden bringt, dabei aber gleichzeitig den Tonus der Gefäßstreifen herabsetzt. Wir können sagen, daß jede



Abb. 10. Art. mesent. von einem Rind. Ganz frisches Gefäß. Belastung 15 g. Zeitmarkierung in Minuten. Bei der Marke 1 wird Adrenalin in einer Konzentration von 1 : 1 000 000 zugesetzt, worauf sich eine sehr kräftige Kontraktion des Gefäßes einstellt, welche von regelmäßigen rhythmischen Tonusschwankungen begleitet ist. Verkl. 1/2.

Abb. 11. Art. mesent. von demselben Gefäß wie in der Abb. 10, welches 8 Tage im Eisschrank aufbewahrt wurde. Belastung 15 g. Zeitmarkierung in Minuten. Es besteht schon in Ringer ein zwar unerheblicher Rhythmus. Bei der Marke 1 wird Adrenalin in einer Konzentration von 1 000 000 zugesetzt, worauf eine langsam ansteigende Kontraktion erfolgt, begleitet von rhythmischen Schwankungen. Sowohl die Kontraktionshöhe als die rhythmischen Schwankungen sind weniger erheblich als im vorigen Versuch mit dem frischen Gefäße derselben Arterie. Verkl. 1/2.

tonusherabsetzende Ursache bei überlebenden Gefäßstreifen nie einen Rhythmus auslöst, sondern einen schon bestehenden mit jeder Regelmäßigkeit zum Verschwinden bringt.

Meyer, Full sowie Siccardi und Loredan haben die Überlebensdauer der rhythmischen Tätigkeit bei isolierten Gefäßstreifen auf ca. 24 Stunden festgesetzt, während Günther selbst nach 8 Tagen bei gut konservierten Arterien Rhythmus beobachten konnte. Meine Erfahrungen stimmen ganz mit jenen von Günther überein. Die diesbezüglichen Belege in den Abb. 12 u. 13 zeigen, daß ein Gefäß von 8 Tagen selbst in Ringerlösung ohne tonisierenden und Rhythmus auslösenden Reiz Tonusschwankungen aufweisen kann, der durch Adrenalin allerdings verstärkt

wird. Der Vergleich der beiden Kurven in Abb. 10 u. 11 ergibt außerdem, daß nicht nur der Rhythmus im älteren Gefäße geringer ist, sondern auch die Erregbarkeit des Gefäßes. Diese Eigenschaften nehmen somit mit dem Alter beide ab.

Nachdem wir die Bedingungen für das Auftreten und das Bestehen von rhythmischen Tonusschwankungen bei überlebenden Gefäßstreifen kennengelernt haben, erübrigt uns, diese Eigenschaft im Detail zu analysieren und deren physiologische Bedeutung zu bewerten. Die Form dieser Tonusschwankungen müssen wir auf Grund der wiedergegebenen Abbildungen als eine äußerst variable bezeichnen. Es ist nach meinen Erfahrungen nicht möglich einen allgemeinen Typus aufzustellen, wie dies Günther in Anlehnung an die Kontraktionskurve des Froschmagens von Grützner auf einen einmaligen elektrischen Reiz tut. Denn die rhythmische Kontraktionskurve bei isolierten Gefäßen besteht nur in den wenigsten Fällen in einem scharf ansteigenden Schenkel, dem kurzen Plateau und einem etwas langsamer absteigenden Schenkel. Wir können ebensogut das Gegenteil beobachten. Aufsteigender und absteigender Schenkel können ferner ganz symmetrisch ausfallen. Ohne auf eine weitere Beschreibung der verschiedenen Kontraktionsformen einzugehen, wovon ein Blick auf die wiedergegebenen Kurven überzeugt, können wir sagen, daß die Form der rhythmischen Kontraktionen bei isolierten Gefäßen äußerst abwechslungsreich ist und gerade diese große Variabilität der Kontraktionsform als ein Merkmal für die rhythmischen Tonusschwankungen isolierter Gefäßstreifen bezeichnet werden kann.

Was uns weiterhin an diesen rhythmischen Tonusschwankungen interessieren muß, sind die Frequenz und die Amplitude dieser Kontraktionen. Günther, welcher bisher wohl die regelmäßigsten rhythmischen Erscheinungen bei solchen Versuchspräparaten beobachtet hat, legt auf diese vom Standpunkt des Physiologen wesentlichsten Punkte kein besonderes Augenmerk. Hinsichtlich der Frequenz können wir aus Günthers experimentellen Daten berechnen, daß dieselbe bei den verschiedenen Gefäßen zwischen 1—9 Minuten variiert. Vergleichen wir mit meinen Ergebnissen, so finden wir, daß im Versuch der Abb. 5 auf je 2 Min. ungefähr eine Kontraktion erfolgt, in der Abb. 6 auf 6—8 Min., in der Abb. 7 haben wir ganz verschiedene Zeiten,

von ca. 30 Sek. bis 2 Min. **Die Frequenz des Rhythmus bei überlebenden Gefäßstreifen ist somit sehr variabel und verglichen mit der Frequenz des Pulses muß sie allgemein als sehr träge bezeichnet werden.** Es zeigt sich, daß **Frequenz** des Rhythmus und **Amplitude** der Kontraktionen sich gegensinnig verhalten; denn ist die Frequenz relativ groß, so ist die Amplitude der Kontraktionen klein und vice versa. Damit haben wir auch eine weitere wesentliche Eigenschaft der rhythmischen Kontraktionen berührt, welche für eine eventuelle praktische Ausnutzung derselben im Dienste der Hämodynamik von Bedeutung ist. Wenn wir bei den zwei oben genannten Grenzfällen für die Frequenz (1 und 9 Min.) aus der Arbeit von **Günther** die Amplitude der jeweiligen Kontraktionen berechnen, die er mit einer 17fachen Vergrößerung registriert hat, so gelangen wir zu folgenden Resultaten. Ich benutze für diese Berechnung die Zahlenangaben der Gefäßmaße, welche **Günther** als die durchschnittliche Länge der untersuchten Carotisstreifen von Pferden angibt. Bei einer Gefäßlänge von 30 mm und einer registrierten Amplitude von 5 mm, red. 0,3 mm, so erhalten wir eine Verkürzung des Gefäßes um 1%. Im zweiten Versuche der Abb. 2, S. 409, beträgt die Amplitude im Versuch 8 mm red. rund 0,5 mm, d. h. eine Verkürzung von rund 1,7%. Wenn wir vergleichend dieselbe Berechnung für meine Versuche in den Abb. 5 u. 6 ausführen, so erhalten wir für den ersten Versuch eine Verkürzung um 13% und im zweiten Versuche eine solche um 36,6%. Das sind aber, wenn ich so sagen darf, zwei Idealfälle. Denn dieselbe Berechnung für andere Versuchsbeispiele ergibt uns in der Regel Werte, die unter jenem des Versuches 5 zu stehen kommen. Durch diese einfache rechnerische Betrachtung wird nun die Bedeutung der rhythmischen Tonusschwankungen an isolierten Gefäßstreifen in ein ganz anderes aber in ein opportunistisches Licht gerückt. So faszinierend die von **Günther** wiedergegebenen Kurven auf den ersten Blick erscheinen mögen, eine zahlenmäßige Übersetzung der registrierten Kurven in die Wirklichkeit, zeigt uns ohne weiteres die Geringfügigkeit dieser Tonusschwankungen. Meine eigenen Ergebnisse scheinen aber anderseits für eine viel höhere Leistungsfähigkeit dieser rhythmischen Kontraktionen zu sprechen. Ich betone aber nochmals daß ein Rhythmus, wie in der Abb. 6 dargestellt ist, unter meinen

mehreren hundert Versuchen nur 5 mal in dieser Intensität zur Beobachtung gelangte. Rhythmische Schwankungen, wie sie Abb. 5 wiedergibt, sind dagegen keine Seltenheit. Wir können daher sagen, daß rhythmische Schwankungen, deren Amplitude einen Verkürzungsgrad von 10% der ursprünglichen Gefäßlänge beträgt, nicht selten sowohl in mit O_2-gesättigter Ringerlösung als auf vasotonisierende Reize an isolierten Gefäßstreifen beobachtet werden.

Wir besitzen nun zwar tatsächlich genügend positive Daten, daß rhythmische Tätigkeit von Arterien an überlebenden Gefäßen ebenso sicher vorkommt wie in vivo. Ich habe bisher nur meine Beobachtungen an isolierten Arterienstreifen von Warmblütern beschrieben. Die Ergebnisse an den künstlich durchströmten Gefäßgebieten beim Frosch, sowie am Kaninchenohr sind prinzipiell mit diesen Daten im Einklang. Auch bei diesen Versuchspräparaten kommt Rhythmik in Ringerlösung, aber vor allem nach Einwirkung von chemisch tonuserhöhenden Reizen vor. Wegen der Analogie unterlasse ich eine eingehende Analyse und verweise den Leser auf die Abb. 50, 54, 63, 64, 66 im speziellen Teile dieser Arbeit. Das Vorkommen von rhythmischen Tonusschwankungen bietet aber noch keineswegs die genügende Gewähr, daß diese rhythmischen Kontraktionen eine allgemeine und eine stete Eigenschaft der Gefäßmuskulatur ist. Sowohl die Versuchsresultate in vivo wie am überlebenden Organe sprechen dagegen. Trotzdem hat diese biologisch zwar recht interessante Erscheinung der Gefäßmuskulatur viele Forscher verleitet, diesen Tonusschwankungen eine wichtige funktionelle Bedeutung im Dienst der Hämodynamik zuzuschreiben. Mareš und sein Schüler Hühne[1]), Hasebroek[2]), Stübel[3]) und Grützner[4]) glauben an ein aktives Eingreifen der Gefäßmuskulatur für die periphere Blutbeförderung, und Grützner spricht geradezu von „peripheren Herzen“. Full, Günther, Müller, De Bonis und Susanna schließen sich einer solchen Auffassung auf Grund ihrer Ergebnisse an isolierten Gefäßstreifen an. Eine quantitative

[1]) Mareš, Arch. f. d. ges. Phys. **165**, 194, 337, 381, 180. 1916.
[2]) K. Hasebroek, Arch. f. d. ges. Physiol. **168**, 247. 1917.
[3]) H. Stübel, Arch. f. d. ges. Physiol. **129**, 1. 1909.
[4]) P. Grützner, Dtsch. Archiv f. klin. Med. **89**, 132.

Betrachtung dieser rhythmischen Erscheinungen, wie dies oben vorgenommen wurde, mahnt zu großer Vorsicht vor solchen Schlüssen. Denn wir sehen, daß die Anforderungen, welche Heß[1]) mit Recht an eine nutzbare Auswertung solcher rhythmischer Kontraktionen an Gefäßen im Sinne einer aktiven Förderwirkung bzw. als „peripheres Herz“ stellt, keineswegs erfüllt sind. Einmal fehlt in der Regel die von Heß geforderte „erhebliche Amplitude“. Die größten bisher an isolierten Gefäßstreifen mit rhythmischer Tätigkeit beobachteten Amplituden sind in den Abb. 5 u. 6 wiedergegeben und erreichen eine Verkürzung von 13 bzw. 36%. Ich habe oben betont, daß selbst unter günstigen Versuchsbedingungen eine Verkürzung von über 10% nur sehr selten registriert werden kann. Aber wenn wir selbst die Konzession machen, daß in vivo unter den günstigeren biologischen Verhältnissen die Amplitude dieser rhythmischen Kontraktionen durchwegs von dieser Größenordnung ist, so genügt dies allein noch nicht, um eine aktive Förderbewegung des Blutes in den Gefäßen in einer bestimmten Richtung zu erzeugen, da bei dem unvollständigen Verschluß des Gefäßes während der Kontraktion sich sofort ein Ausgleich der Druckdifferenz zwischen dem peripheren und dem zentralen von der kontrahierten Partie gelegenen Anteile einstellen wird. Für eine wirksame Ausnutzung der rhythmischen Kontraktionen müßte sich daher die zweite von Heß geforderte Bedingung erfüllen: „daß diese allfällig auftretende Arbeitsleistung nur dann in einen nach der Peripherie gerichteten Strömungsantrieb ausgewertet werden kann, wenn für diese Auswertung ein spezieller strömungsrichtender Mechanismus vorhanden ist.“ Dieser geforderte Mechanismus besteht in einem Klappenapparat und fehlt bekanntlich im arteriellen Gefäßsystem. Weiterhin spricht die oben erwähnte Trägheit, besonders bei Vorhandensein von kräftigen Amplituden dieser rhythmischen Kontraktionen für die Hinfälligkeit der Ansicht, daß diese Eigenschaft der Gefäßmuskulatur als wirksames Förderungsmittel des Blutes in Betracht kommt. Eine rationelle hämodynamische Ausnutzung der rhythmischen Gefäßkontraktionen erfordert ferner, daß diese Bewegungen gewissermaßen in Form einer Welle vom zentralen zum peripheren Abschnitte der Arterie gegen die Capillaren hin in koordinierter Weise verlaufen, wie wir dies in dem typischen

[1]) W. R. Hess, Arch. f. d. ges. Phys. 173, 243–264. 1919.

Beispiel der rhythmischen Tätigkeit in der Vene des Fledermausflügels (Jones, Luchsinger, Heß) besitzen. Riegel[1]) konnte aber an der Froschschwimmhaut beobachten, daß „diese rhythmischen Kontraktionen durchaus nicht gleichmäßig eine Arterie in ihrer ganzen Länge betreffen, sondern daß enge mit etwas weiteren, mit ganz weiten in der unregelmäßigsten Weise abwechseln.“ Heß[2]) hat einen ebenso unkoordinierten Ablauf der rhythmischen Kontraktionen der Art. auric. des Kaninchenohres ausführlich beschrieben und zahlenmäßig analysiert.

Unsere experimentellen Studien an isolierten Gefäßstreifen von Warmblütern lassen sicher die Existenz von rhythmischen Tonusschwankungen beweisen. Dies Ergebnis ist insofern interessant, als wir dadurch annehmen dürfen, daß die in vivo beobachteten analogen Vorgänge der Gefäßmuskulatur nicht durch das Zentralnervensystem bedingt sind, sondern eine Eigenschaft der Gefäßmuskulatur darstellen. Die Analyse der notwendigen Bedingungen für eine aktive Förderleistung des Blutstromes durch diese rhythmischen Tonusschwankungen der Arterien ergibt, daß eine solche zufolge der geringen Frequenz, der wegen des Fehlens eines strömungsrichtenden Klappenapparates in den Arterien ungenügenden Amplituden der Kontraktionen und des unkoordinierten Verlaufes der Kontraktionswelle in vivo im allgemeinen nicht angenommen werden kann. Daß eine solche doch vorkommt, beweisen z. B. die Untersuchungen von Jones, Luchsinger und Heß an den pulsierenden Venen des Fledermausflügels. Die besprochenen rhythmischen Tonusschwankungen der Arterien können aber wohl durch die Querschnittsveränderungen die Widerstandsverhältnisse im Gefäßsystem beeinflussen.

Die bei den isolierten Gefäßstreifen gemachten Erfahrungen über die rhythmischen Tonusschwankungen sind:

1. Rhythmische Tonusschwankungen an isolierten Arterienstreifen von Warmblütern können sehr häufig, aber nicht regelmäßig registriert werden.
2. Die Rhythmik ist charakterisiert durch eine große Variabilität hinsichtlich der Form, Frequenz und Amplitude der Kontraktionen.

---

[1]) Riegel, Arch. f. d. ges. Physiol. 4, 350. 1871.

[2]) W. R. Hess, l. c. S. 248.

3. **Rhythmische Tonusschwankungen an isolierten Arterienstreifen treten auch auf in reiner O_2-gesättigter Ringerlösung. Da der Sauerstoff sowohl das Auftreten als die Aufrechterhaltung der rhythmischen Tätigkeit fördert, kann dieselbe keineswegs als Erstickungskrämpfe betrachtet werden, wie dies Meyer, Full und Loening tun, sondern dieselbe stellt eine physiologische Erscheinung überlebender Gefäßmuskulatur dar.**
4. **Rhythmus kann an isolierten Gefäßstreifen sehr häufig durch tonuserhöhende chemische Reize ausgelöst werden, wo ein solcher in mit O_2-gesättigtem Ringer nicht besteht. Tonusherabsetzende chemische Reize verursachen dagegen nie Rhythmus und eine vorher bestehende rhythmische Tätigkeit wird durch diese Reize gehemmt.**
5. **Die Bedingungen für eine aktive Förderleistung des Blutes durch diese rhythmischen Tonusschwankungen der Arterienmuskulatur im Sinne „peripheren Herzens" sind nicht erfüllt.**

Dieses negative Ergebnis der physiologischen Auswertung der rhythmischen Kontraktionen im Dienste der Hämodynamik führt uns zu einer anderen Auffassung über die Existenz und Bedeutung dieser Eigenschaft der Gefäßmuskulatur. Rhythmus an isolierten Arterienstreifen erscheint am regelmäßigsten unter solchen Bedingungen, wo entweder das Gefäß sich in einem mittleren Tonus befindet oder durch tonuserhöhenden chemischen Reiz in einen höheren Tonus versetzt wird. In keinem Falle dagegen konnte bisher rhythmische Tätigkeit an solchen Gefäßpräparaten durch ein tonusherabsetzendes Agens ausgelöst werden. Im Gegenteil trat unter diesen Bedingungen stets eine Hemmung schon bestehender Rhythmik ein. Wir dürfen daraus ohne Bedenken schließen, daß zwischen dem Gefäßtonus bzw. dessen Schwankungen und der rhythmischen Tätigkeit eine ganz enge Beziehung in dem Sinne besteht, daß rhythmische Tätigkeit entweder mit einem bestehenden mittleren Tonus oder mit einer provozierten Tonuserhöhung koindiziert: m. a. W. können wir sagen; daß überlebende Gefäßstreifen einen anhaltenden Tonus nicht in Form einer gleichmäßigen Dauerkontraktion, sondern

sehr häufig durch mehr oder weniger ausgesprochen rhythmische Schwankungen aufrechterhalten. Ebenso ist die Form der Kurve eines Gefäßstreifens häufig auf einen tonuserhöhenden Reiz nicht jener einer einfachen Muskelkontraktion analog, sondern durch rhythmische, stufenförmige, sinuswellenförmige Schwankungen charakterisiert. Aus diesen Überlegungen geht hervor, daß die isolierte Gefäßmuskulatur speziell dann rhythmische Tätigkeit aufweist, wenn sie Arbeit leistet. Diese rhythmische Tätigkeit erscheint uns somit als eine Eigenschaft, welche die Gefäßmuskulatur mit anderen glatten Muskeln teilt, wie mit jener des Magen-Darmtraktus und des Urogenitalsystems. Auch hier kennen wir Organe, die einen Rhythmus nur bei Ausübung ihrer physiologischen Funktionen aufweisen, z. B. der Uterus, die Vesicula seminalis usw. Entwicklungsgeschichtlich betrachtet besteht auch große Wahrscheinlichkeit, daß die ursprüngliche Art der Arbeitsleistung der Gefäßmuskulatur überhaupt eine rhythmische ist. Was wir daher heute an rhythmischen Erscheinungen bei der Gefäßmuskulatur beobachten, können wir vielleicht als ein phylogenetisches Erbstück betrachten, welches sich bei Wirbeltieren wenigstens mit gut ausgebildetem, den Blutkreislauf unterhaltendem zentralem Antriebsorgan, zum allergrößten Teile nur rudimentär erhalten hat. Diese ursprüngliche Eigenschaft der rhythmischen Tätigkeit der Gefäße hätte sich gewissermaßen auf das Herz konzentriert und dieses somit bei der morphologischen und funktionellen Differenzierung des Zirkulationsapparates eine Funktion übernommen, welche auf einer früheren Stufe der Entwicklung den Gefäßen, besonders den Arterien, oblag. Diese entwicklungsgeschichtliche Betrachtungsweise ist zwar eine Hypothese, scheint mir aber geeignet, nicht nur die Existenz der rhythmischen Erscheinungen an den Gefäßen zu erklären, sondern auch die verschiedene Form des Auftretens und deren physiologische Bedeutung in ein richtiges Licht zu rücken.

C. Über die Leistungsfähigkeit der Gefäßstreifenmethode als Testobjekt für den Nachweis von vasotonisierenden Substanzen.

Nachdem wir die optimalen Versuchsbedingungen der Gefäßstreifenmethode kennen, wollen wir uns über deren Leistungsfähigkeit Rechenschaft geben. Die obigen Ausführungen über die Tonuseinstellung isolierter Gefäßstreifen gewinnt ihre Bedeutung

erst mit deren Erkenntnis, daß ein solcher Arterienring vor dem Eintritt in einen mittleren Tonuszustand, also in der ersten und zweiten Phase der Tonuseinstellung sozusagen unempfindlich gegenüber chemischen Reizen ist. Eine normale Erregbarkeit tritt nämlich erst in der dritten Phase, im Zustande des mittleren



Abb. 12. Art. mesent. einer Kuh. Belastung 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke 1 wird Adrenalin 1 : 1 000 000 zugesetzt. Es erfolgt eine Kontraktion des Gefäßes, beim Pfeile wird das Gefäß ausgewaschen. Bei der Marke 2 wird dieselbe Adrenalindosis appliziert, die Verkürzung des Gefäßes beträgt gut das dreifache wie im ersten Versuche. Verkl. $^1/_2$.

Tonus ein. Dabei zeigte sich mit jeder Regelmäßigkeit, daß der erste applizierte vasotonisierende Reiz einen viel geringeren Effekt auslöst als der zweite bzw. die folgenden von derselben Qualität und Intensität. Die Abb. 12 u. 13 liefern für das Gesagte den Beweis.

Der zweite vasotonisierende Reiz kann das fünf- und mehrfache des ersten erreichen. Diese Erscheinung habe ich nach-

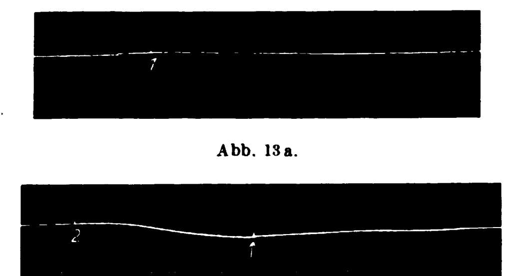


Abb. 13a.

Abb. 13b.

Abb. 13a und b. Art. coronaris cordis vom Rind: Belastung 15 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. In beiden Versuchen wird Adrenalin 1 : 1 000 000 appliziert. Während im ersten Versuche sozusagen keine Verlängerung des Gefäßes zu erkennen ist, wird dasselbe Gefäß im zweiten Versuche stark erschlafft. Verkl. $^1/_2$.

gewiesen für Blut bzw. Blutserum, Adrenalin, Histamin, Hypophysenextrakt, Milzextrakt. Ob dies für alle vasotonisierenden Substanzen gilt, bin ich nicht in der Lage zu entscheiden. Sicher ist aber, daß diese Erscheinung auch bei tonuserniedrigenden Reizen, wie Adrenalin auf die Herzkranzarterie von Rindvieh, ausgelöst werden kann, wie Abb. 13 zeigt. Dieser Befund ist von Wichtigkeit, sobald quantitative Schlüsse aus solchen Unter-

suchungen gezogen werden sollen. Der Arterienstreifen erfährt somit durch den ersten wirksamen Reiz gewissermaßen eine Steigerung der Erregbarkeit, er wird, wie wir sagen, sensibilisiert. Ob es sich um eine tatsächliche Sensibilisierung oder um eine ähnliche Erscheinung, wie wir dies in der sog. Treppe bei der Ermüdungskurve des quergestreiften Muskels gefunden haben, handelt, will ich hier nicht verfolgen.

Die Reaktionsfähigkeit eines in einen mittleren Tonus eingestellten Gefäßstreifens kann 10 und selbst mehr Stunden dauern, vorausgesetzt, daß während der Versuchsreihe das Gefäß stets mit O_2 versorgt wird, die Reize nicht zu rasch aufeinanderfolgen und nur Dosen innerhalb physiologischer Grenzen angewandt werden. Öftere Reizung mit Dosen von maximaler Wirkung setzen die Erregbarkeit des Testobjektes infolge Ermüdung rasch herab. Die Überlebensdauer der Erregbarkeit der isolierten Arterien gegenüber chemischen Reizen kann bei geeigneter Konservierung 8—10 Tage erreichen, wie dies schon von anderen Autoren beobachtet wurde (Mac William, Meyer usw.). Dazu werden die Gefäße am besten in mit O_2-gesättigter, täglich zu wechselnder Ringerlösung im Eisschrank aufbewahrt. Auf diese Weise konservierte Gefäße zeigen nach 1—2 Tagen kaum eine Herabsetzung der Erregbarkeit, mit dem weiteren Alter nimmt dieselbe aber allmählich ab. Diese Gefäße bewahren nicht nur ihre Erregbarkeit gegenüber chemischen Reizen, sondern besitzen die notwendigen Bedingungen für das Auftreten von rhythmischen Erscheinungen. Ein Beispiel soll uns noch von der äußerst zähen Lebensfähigkeit isolierter Gefäße überzeugen. Abb. 14b zeigt uns die Tonuserschlaffung (abwärtsgerichtete Pfeile) zweier Arterienringe eines Nierengefäßes zufolge Abstellen der O_2-Durchströmung und Herabsetzung der Temperatur von 39° auf 15°. Das Gefäß verharrt nun während 12 Stunden bei gleichbleibender Belastung von 20 g bei 15° im Apparat. Nach Einstellen der Versuchstemperatur auf 39° und unter der O_2-Wirkung steigt der Tonus wieder (aufwärts gerichtete Pfeile). Die Abb. 14a u. c belegen nun, daß die Erregbarkeit dieser Arterienstreifen durch diese Behandlung nur sehr wenig eingebüßt hat. Meyer[1]) beschreibt ein solches Beispiel in seiner Arbeit, betrachtet aber den Abfall des Tonus als ein sicheres Kriterium für den eingetretenen

[1]) O. B. Meyer, l. c. S. 221.

Tod des Gefäßes. Daß dem nicht so ist, erfolgt aus dem erneuten Tonusanstieg beim Verbringen der Gefäße unter normale Versuchsbedingungen und der nur wenig herabgesetzten Erregbarkeit gegenüber demselben chemischen Reize.

Es erübrigt mir die Ergebnisse über die allgemeine Reaktionsfähigkeit noch zu erwähnen, welche geeignet sind die Methode der

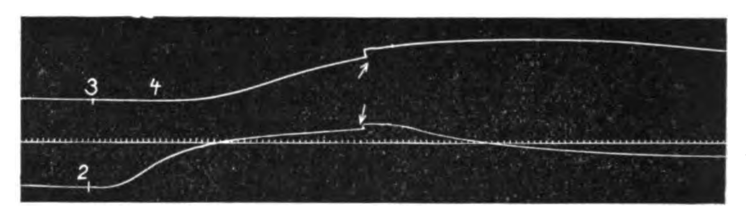
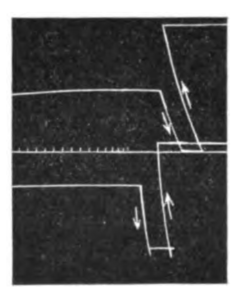


Abb. 14 a.



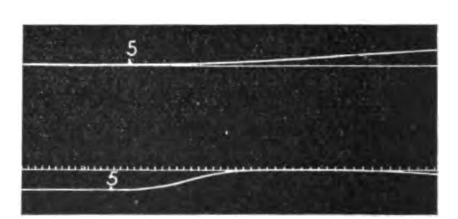


Abb. 14 b. Abb. 14 c.

Abb. 14 a, b, c. Zwei Arterienstreifen einer Art. renalis. Belastung 20 g. Zeitmarkierung alle 8 Sek. In Abb. 14 b ist der Tonus bei 39° und in mit O_2 gesättigtem Ringer registriert, die abwärts gerichteten Pfeile zeigen die Tonuserschlaffung der Gefäße durch die Abnahme der Temperatur auf 15° und Abstellen des O_2-Stromes. Die aufwärts gerichteten Pfeile zeigen die Zunahme des Tonus unter Erwärmung auf 39° unter O_2-Zuströmung, nachdem die Gefäße während 12 Stunden unter Belastung bei 15° im Apparat eingespannt verblieben. Die Abb. a und c geben die Erregbarkeitsverhältnisse gegenüber β-Imido wieder. Bei den Marken 3 in Abb. a wird eine Dosis von 1 : 1000 000 bzw. bei 4 im oberen Gefäße 1 : 500 000 zugesetzt. In der Abb. c wird bei der Marke 5 zum oberen Gefäß 1: 500 000 und zum unteren Gefäß 1 : 1 000 000 zugesetzt. Man sieht, daß die Erregbarkeit gegenüber demselben Reiz nur unwesentlich abgenommen hat. Verkl. bei Abb. a $^1/_3$, bei Abb. b und c $^1/_2$.

überlebenden Arterienstreifen als Testobjekt für den Nachweis von vasotonisierenden Substanzen zu bewerten. Zu den wesentlichen Anforderungen für die Brauchbarkeit einer solchen Methode gehören außer den schon erwähnten Faktoren: die Konstanz der Reaktionsweise, eine hohe Empfindlichkeit des Testobjektes und die Möglichkeit der qualitativen Differenzierung der zu untersuchenden Substanz. Was die Konstanz der Reaktionsweise überlebender Arterienstreifen anbelangt, so haben mich meine mehrjährigen Erfahrungen davon

überzeugt, daß bei vorsichtiger Präparation und Konservierung solche Gefäße unter den beschriebenen methodischen Voraussetzungen wünschbar gute Resultate geben. Die Qualität des Erfolges ist zwar bei den verschiedenen Gefäßen auf denselben chemischen Reiz nicht identisch. Aber aus meinen Ergebnissen im folgenden speziellen Teile geht doch hervor, daß diese Verschiedenheiten gesetzmäßig sind. Die Ursachen werden wir dort kennen lernen. Wenn wir an den isolierten Arterienstreifen ein sich konstant verhaltendes Testobjekt besitzen, so muß aber für seine Brauchbarkeit die Forderung einer hohen Erregbarkeit gegenüber vasotonisierenden Reizen erfüllt sein. Meyer hat für Adrenalin eine Reizschwelle von 1 : 1 000 000 000 angegeben. Dies konnte bisher von keinem anderen Autor bestätigt werden. Auch ich war weniger glücklich als Meyer und muß die mittlere Reizschwelle für Adrenalin auf 1 : 10 000 000 anschlagen. Tatsächlich erzielte ich eine solche von 100 000 000, aber das sind seltene Ausnahmen. Meyer gibt übrigens an, daß in seinem betreffenden Versuche die verdünnte Adrenalinlösung vorgewärmt wurde. Das ist, insoweit es die Temperatur betrifft, sicher korrekt. Aber eine Adrenalinlösung in mit O_2-gesättigtem Ringer von 1 : 1 000 000 war in meinen Versuchen nach ca. 10 Min. unwirksam, weshalb ich in meinen Versuchen nicht die verdünnte Adrenalinlösung vorwärmte, sondern in konz. Form in das Versuchsgefäß von 50 ccm Inhalt hinzugab. Meyers Adrenalinlösung war aber stärker verdünnt, und bekanntlich steigt die Zerstörbarkeit des Adrenalins mit der Verdünnung. Wie Meyer auf obige Weise zu seinem Erfolg gelangte ist mir unklar. **Ich halte somit dafür, daß eine Erregbarkeit gegenüber Adrenalin von mindestens 1 : 1 000 000 für die Brauchbarkeit eines jeden Gefäßes gefordert werden muß.** Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß die Gefäßstreifenmethode in bezug auf Empfindlichkeit gegenüber Adrenalin anderen Testobjekten, wie der Froschextremität oder dem Kaninchenohr weit nachsteht, da dort Dosen von $1 : 10^{-8}$ nach eigenen Erfahrungen von ganz erheblichem Erfolge begleitet sind, und del Campo[1]) gibt an, daß Dosen von 1 ccm Adrenalin 1 : 1 Billion beim isolierten Kaninchenohr noch „sehr deutliche Wirkungen geben". Die uns weiterhin interessierende Frage, ob es sich bei einer zu unter-

[1]) E. del Campo, Zeitschr. f. Biol. 69, 111, 124. 1918.

suchenden vasotonisierenden Substanz um Adrenalin handelt, kann aber durch keines der beiden sehr empfindlichen Testobjekte entschieden werden, da auch eine andere vasotonisierende Substanz dieselbe qualitative Erscheinung auslösen kann. Dagegen erlaubt die Gefäßstreifenmethode innerhalb der angeführten Dosen eine ziemlich sichere Entscheidung, da die Art. coronaris vom Rindvieh auf Adrenalin eine Gefäßerweiterung erfährt, während die Art. carotis bzw. mesent. kontrahiert werden. Da wir bisher keine org. vasotonisierende Substanz mit derselben qualitativ verschiedenen Wirkungsweise auf Art. coronaris und Art. mesent. kennen, so läßt ein solches Versuchsresultat mit diesen zwei Gefäßstreifen mit großer Sicherheit auf Adrenalin schließen. Werden die Art. carotis bzw. mesent. durch die Substanz wie die Art. coron. cordis dilatiert, so können wir das Vorliegen von Adrenalin gerade so gut ausschließen wie im vorigen Falle annehmen. Diese Tatsache beleuchtet, daß die Gefäßstreifenmethode in qualitativem Sinne mehr leisten kann, als die genannten empfindlicheren Testobjekte, diese letzteren aber in quantitativer Hinsicht entschieden den Vorzug haben. Die Kombination der beiden Methoden dürfte daher das Optimum leisten. Für andere vasotonisierende Substanzen habe ich eine solche Differenzierung nicht nachweisen können. Auf jeden Fall kann ich die Gefäßstreifenmethode nicht leichthin als inferior bezeichnen, wie das Müller[1]) tut, wenn er sagt: „Gerade um zu zeigen, wie ein launenhaftes und schwer zu beherrschendes Untersuchungsobjekt der überlebende Gefäßmuskel ist, sollen die von mir gewonnenen Ergebnisse ganz kurz mitgeteilt werden.“ Eine solche Ansicht muß ich auf Grund meiner reichlichen Erfahrungen auf eine mangelhafte Technik zurückführen, wofür übrigens die Resultate im speziellen Teile genügend Beweise liefern. Solche Ansichten, wie jene von Müller über die Leistungsfähigkeit der Gefäßstreifenmethode mögen leider das abschätzende Urteil über die Brauchbarkeit und Leistungsfähigkeit der Gefäßstreifenmethode von O'Connor und Gottlieb[2]) beeinflußt haben.

---

[1]) Fr. Müller, l. c. S. 238.

[2]) O'Connor und Gottlieb, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden, 4, 585. 1912.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungsweise einiger chemischer, vasotonisierender Substanzen organischer Natur auf überlebende Gefäße. II.

Von

E. Rothlin.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 29. Juni 1920.)

Mit 24 Abbildungen im Text.

Nachdem wir die Ergebnisse der Untersuchungen über allgemeine Eigenschaften und die Leistungsfähigkeit der Methode an isolierten Gefäßstreifen kennen, sollen dieselben im folgenden eine nutzbare Anwendung finden. Wie schon einleitend bemerkt, ist unser Ziel die Kenntnis der Wirkungsweise einiger vasotonisierender chemischer Reize auf überlebende Gefäße. Untersucht werden: Blut bzw. Oxalatblut, def. Blut bzw. Blutserum, Adrenalin, β-Imidazolyläthylamin (Histamin), Hypophysenextrakt (Pituglandol) und Milzextrakt (Lienin). Die Resultate an überlebenden Gefäßstreifen werden der Vollständigkeit halber mit denjenigen anderer Präparate überlebender Gefäße verglichen. Wir beginnen unsere Analyse mit folgender Untersuchung:

1. Untersuchungen über die vasotonisierende Wirkung des Blutes.

Die Untersuchung der vasotonisierenden Eigenschaften des Blutes ist von besonderem Interesse. Denn einerseits lehrt uns eine solche Kenntnis, welchen Anteil das Blut für die Aufrechterhaltung des normalen Gefäßtonus hat und andererseits müßte es dem Kliniker sehr willkommen sein, abnorme Schwankungen der vasotonisierenden Eigenschaft des Blutes konstatieren und ev. mit Erfolg für die Erklärung von Krankheitsbildern und deren therapeutischen Beeinflussung verwerten zu können. Es soll daher versucht werden, jene chemischen Produkte aus ihrer Wirkung nachzuweisen und zu charakterisieren, welche wir auf Grund der Untersuchungen an Organen ohne äußeren Ausführungsgang als sog. vasotoni-

sierende Substanzen im Blute zu erwarten haben. Dieses Problem hat seit 1894, seit der Entdeckung des auf das Gefäßsystem sehr intensiv wirkenden Nebennierenextraktes durch Oliver und Schäfer immer wieder die Aufmerksamkeit der Forscher erregt. Es sind seither eine ganze Reihe Methoden entstanden, um solche vasotonisierende Substanzen auf biologischem Wege nachzuweisen. Ich verweise auf die diesbezüglichen zusammenfassenden Arbeiten von Biedl[1]) und O'Connor und Gottlieb[2]). Die Schwierigkeit eines quantitativen Nachweises der vasotonisierenden Substanzen des Blutes liegt einerseits in der Blutgerinnung, bzw. der damit verbundenen Vorgänge und anderseits in der Methodik bzw. der Wahl eines brauchbaren Testobjektes. Ein solches Testobjekt für den Nachweis vasotonisierender Substanzen muß sowohl vasokonstriktorische als vasodilatorische Wirkungen in geringsten Konzentrationen anzeigen. Ideal ist aber ein Testobjekt erst, wenn dasselbe nicht nur feine quantitative Unterschiede der vasotonisierenden Wirkung messen läßt, sondern, wenn der Erfolg am Testobjekt auf die Natur des chemischen Reizes Rückschlüsse zuläßt. Oben wurde gezeigt, inwieweit wir in der Gefäßstreifenmethode ein solch ideales Testobjekt besitzen und nun soll dessen Leistungsfähigkeit für unsere Untersuchung herangezogen werden.

Um Normalblut für eine solche Untersuchung verwenden zu können, muß die Gerinnung desselben verhindert werden. Hirudin konnte ich mir in den notwendigen Mengen nicht verschaffen, so war ich genötigt, meine Versuche mit Oxalatblut zu unternehmen. Dieses Vorgehen ist zwar nicht ideal, wie es vielleicht jenes bei Verwendung von Hirudin sein dürfte, aber Vorversuche zeigten, daß ein Zusatz von 1 promill. Natriumoxalat in Ringer zu den verwendeten Testobjekten einen bestehenden Tonus nicht beeinflußte, wenigstens nicht für die Dauer eines Versuches. Das untersuchte Blut ist somit peripheres Oxalatblut, welches aus der Carotis geschlachteter Tiere in ein Gefäß mit entsprechender Menge Natriumoxalat aufgefangen wurde. Das def. Blut ist durch vorsichtiges Schlagen und das Blutserum durch spontanes Auspressenlassen des Blutkuchens im Eisschrank gewonnen. Als Testobjekte verwende ich in der Regel gleichzeitig zwei Gefäßstreifen verschiedener Gefäßgebiete: Art. coronaris cordis vom Rindvieh und eine Art. mesenterica, deren Verhalten gegenüber Adrenalin ein gegensätzliches ist. Ich gebe erst einige Beispiele wieder.

---

[1]) A. Biedl, Innere Sekretion, 3. Aufl. 1916. Urban & Schwarzenberg, Berlin—Wien.

[2]) O'Connor und Gottlieb, Handbuch der biochem. Arbeitsmethoden 4, 585. 1912.

Die vasotonisierende Wirkung des Oxalatblutes auf isolierte Gefäßstreifen muß, aus den Versuchen der Abb. 1—4 zu schließen, als inkonstant bezeichnet werden. Bald besteht eine Indifferenz (Abb. 3), bald tritt eine ganz geringe Kontraktion der Gefäße ein (Abb. 2) und schließlich können die Art. mesent. und die Art. coronaris cordis durch dasselbe Oxalatblut in entgegengesetztem Sinne beeinflußt, die erstere kontrahiert, die letztere dilatiert werden (Abb. 1). Das Oxalatblut enthält somit vasotonisierende Substanzen, die nicht nur inkonstant, sondern auch nicht chemisch einheitlicher Natur zu sein scheinen. Die Art. mesent. wird durch Oxalatblut entweder gar nicht oder dann vasoconstrictorisch beeinflußt. Die Abb. 1—3 geben aber Zeugnis dafür, daß die Wirkungsweise des Oxalatblutes auf die Art.

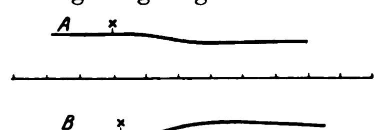


Abb 1. A. Art. coron. vom Rind. B. Art. mesent. vom Rind. Beide Gefäße werden mit 15 g belastet. Zeitmarkierung in Minuten. Zu beiden Gefäßen wird bei der Marke X Oxalatblut in einer Verdünnung von 1 : 2 mit Ringerlösung zugesetzt. Die Herzkranzarterie erweitert sich, während das Mesenterialgefäß sich kontrahiert. Verkl. $^1/_3$.

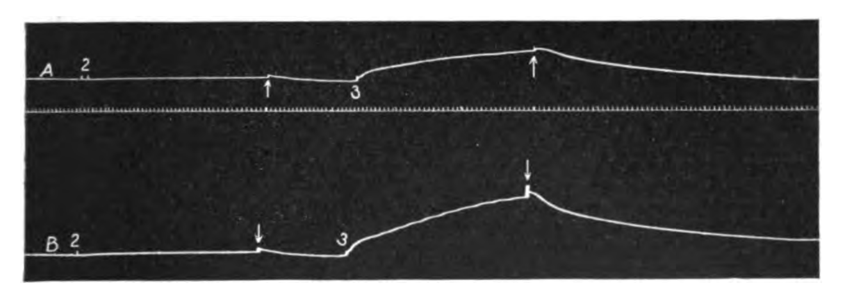


Abb. 2. A. Art. coronaris. B. Art. mesent. von einer Kuh. Belastung je 20 g Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke 2 wird zu beiden Gefäßen Oxalatblut mit Ringer auf 1 : 25 verdünnt zugesetzt. Beide Gefäße erfahren eine eben deutliche Kontraktion. Der Pfeil bedeutet Auswaschen des Gefäßes mit Ringer. Bei der Marke 3 wird zu beiden Gefäßen def. Blut mit Ringer auf 1 : 25 verdünnt zugesetzt, worauf eine kräftige Kontraktion beider Gefäße erfolgt. Verkl. $^1/_2$.

coronaris cordis verschiedensinnig ausfallen kann, d. h. es kann Indifferenz bestehen, oder solche Gefäße können kontrahiert bzw. auch dilatiert werden. Aus diesen verschiedenen Verhalten der beiden Testobjekte versuchen wir uns über die Natur der verschiedenen im Oxalatblute vorkommenden vasotonisierenden Substanzen klar zu werden. Von allen jenen vasotonisierenden Substanzen, welche im Blute entweder sicher (Adrenalin und Hypophysenextrakt) oder hypothetisch (β-Imidazolyläthylamin

und Milzextrakt) vorkommen können, ist es Adrenalin allein, welches diese gegensätzliche Wirkungsweise auf diese beiden

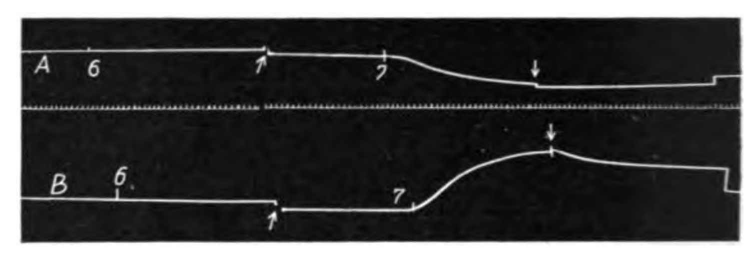


Abb. 3. A. Art. coronaris cordis; B. Art. mesent. von einem Rind. Belastung je 15 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke 6 Zusatz von Oxalatblut mit Ringer 1 : 5. Beide Gefäße verhalten sich indifferent. Auswaschen des Gefäßes und Pause während 10 Min. Bei der Marke 7 wird wieder Oxalatblut 1 : 5 dem Adrenalin in einer Konzentration von 1 : 10 000 000 zugesetzt wurde. Die Herzkranzarterie wird nun erweitert, die Mesenterialarterie dagegen verengert. Verkl. 1/3.

Testobjekte auszuüben vermag, wie dies die Abb. 1 zur Darstellung bringt. Eine analoge Wirkung kommt zwar dem wässerigen und alkoholischen Lymphdrüsenextrakt zu, wie Stern und Rothlin[1]) gezeigt haben, aber als regelmäßiges Agens im Blute kommt dies kaum in Betracht. Ich glaube daher keinen Fehlschluß zu gehen, wenn ich diese Substanz im Oxalatblut, welche diese Wirkungsweise auf diese zwei verschiedenen Gefäßsubstrate ausübt, per exclusionem als Adrenalin bezeichne. Ich nenne diese der Einfachheit halber die I. vasotonisierende Substanz des Oxalatblutes. Wenn in anderen Versuchen das Oxalatblut auf dieselben Testobjekte ohne jeden vasotonisierenden Einfluß ist, so ist daran zu denken, daß in demselben eine dem Adrenalin entgegengesetzt wirkende Substanz vorkommt. Alle bisherigen experimentellen

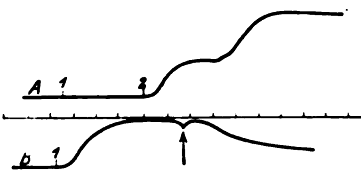


Abb. 4. Gefäße A und B stammen von einer Art. mesenterica von einem Rind. Belastung 15 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Beide Gefäße reagieren mit kräftiger Kontraktion auf Adrenalin von 1 : 1 000 000. Bei der Marke 1 wird zu Gefäß *A* Oxalatblut in einer Konzentration von 1 : 25, zu Gefäß *B* Rinderserum in derselben Konzentration zugesetzt. Während Gefäß *A* im ursprünglichen Tonus verbleibt, kontrahiert sich das Gefäß *B*. Bei der Marke 2 wird bei Gefäß *A* die Konzentration des Oxalatblutes verdoppelt 1 : 12,5. Nun erfolgt hier eine kräftige Kontraktion des Gefäßes in zwei Phasen. Beim Versuch, die Gefäße mit Ringer auszuwaschen, zeigte sich, daß im Versuchsgläschen des Gefäßes *A* das Oxalatblut geronnen war, worauf die konstriktorische Wirkung zurückzuführen ist, da ein erneuter Kontrollversuch mit Oxalatblut von 1 : 12,5 bei demselben Gefäße ohne jeden Erfolg blieb. Verkl. 1/3.

[1]) Stern und Rothlin, Journ. de physiol. et de pathol. gén. **18**, 441. 1919.

Daten, auch jene anderer Autoren, mit anderen Testobjekten sind aber derart, daß eine solche Annahme nicht gerechtfertigt ist. Ich glaube daher vielmehr mit der Tatsache rechnen zu müssen, daß die Konzentration dieser I. vasotonisierenden Substanz bzw. des Adrenalins nicht groß genug ist, um den Schwellenwert für die verwendeten Testobjekte zu erreichen. Aus dem Umstande aber, daß Adrenalin, zu einem an sich unwirksamen Oxalatblut in einer Konzentration von 1 : 10 000 000 zugesetzt, eine sehr kräftige Kontraktion bzw. Dilatation verursacht (Abb. 3), läßt sich sagen, daß die Konzentration des Adrenalins im peripheren Blute bedeutend unter derjenigen des künstlich zugesetzten Adrenalins gelegen sein muß. Ich unterstehe mich nicht, daraus auf eine bestimmte Konzentration zu schließen, ich werde in einer anderen Arbeit auf diesen Gegenstand zurückkommen und zeigen, wie weit sich unsere bisherigen Anschauungen über den Adrenalingehalt des peripheren Blutes halten lassen.

In jenen Versuchen, wo Oxalatblut auf die beiden Testobjekte Art. coronaris cordis und Art. mesenterica einen gleichsinnigen vasoconstrictorischen Erfolg auslöst, müssen wir nach dem Gesagten unbedingt annehmen, daß die wirksame Substanz nicht Adrenalin sein kann. Die Versuche in den Abb. 1, 2 u. 4 geben uns den Schlüssel für eine Erklärung. Während ein Zusatz von Oxalatblut auf beide Gefäße in der Abb. 2 eine zwar sehr geringe aber deutliche Kontraktion verursacht, hat def. Blut in derselben Konzentration und von demselben Tiere eine sehr kräftige Verkürzung der beiden Gefäße zur Folge. Wir sehen daraus, daß unter Umständen def. Blut und Oxalatblut sich nur quantitativ, nicht aber qualitativ in ihrer Wirkung auf diese gegenüber Adrenalin sich gegensinnig verhaltenden Testobjekte unterscheiden. Def. Blut und Blutserum verhalten sich unter den angegebenen Versuchsbedingungen stets ganz analog. Die Ursache dieser gleichen Wirkungsweise von Oxalatblut und def. Blut bzw. Blutserum geht nun aus dem Versuche der Abb. 4 hervor. Oxalatblut in einer Konzentration von 1 : 25 bei Gefäß *A* ist ohne jeden vasotonisierenden Einfluß, das Rinderserum von demselben Blute und in derselben Konzentration bei Gefäß *B* bedingt eine sehr kräftige Kontraktion. Nachdem nun die Konzentration des Oxalatblutes bei Gefäß *A* verdoppelt, erfolgt bald eine erhebliche Kontraktion in 2 Phasen. Eine solche erhebliche Kontraktion war,

weil nie vorher beobachtet, ganz unerklärlich und äußerst frappant. Ich dachte an Versuchsfehler und wollte zur Kontrolle den Versuch unter denselben Bedingungen wiederholen. Beim Auswaschen des Gefäßes mit Ringer löste sich aber das Rätsel, denn es zeigte sich, daß das Oxalatblut in dem Versuchsgläschen geronnen war. Ein Kontrollversuch mit demselben Oxalatblut und denselben Gefäßen mit einer Konzentration von 1 : 5 zeigte mir die Unwirksamkeit des Oxalatblutes unter normalen Bedingungen. Es kann somit keinem Zweifel unterliegen, daß der vasoconstrictorische Effekt im Versuche der Abb. 4 bei Gefäß *A* auf das Freiwerden einer sehr wirksamen Substanz zufolge der Gerinnung des Oxalatblutes zurückzuführen ist. Solche Versuche mit „spontaner" Gerinnung des Oxalatblutes während des Experimentes habe ich einige erlebt und stets mit demselben Erfolge. Der Ursache der Gerinnung bin ich weiter nicht nachgegangen. Aber ich konnte mich durch Kontrollversuche davon überzeugen, daß diese vasoconstrictorische Substanz im reinen Oxalatblut nicht a priori frei vorhanden war. Dies gilt allerdings nur mit einer gewissen Einschränkung. In den vielen Versuchen, wo Oxalatblut zur Untersuchung gelangte, zeigte es sich nicht selten, daß in demselben eine auf beide Testobjekte gleichsinnig wirkende also rein vasoconstrictorisch wirksame Substanz anzutreffen war wie im Blutserum (Abb. 2). Bei der Unregelmäßigkeit des Auftretens dieser Erscheinung, bei den quantitativ großen Differenzen dieser zweiten vasotonisierenden Eigenschaft im Oxalatblute, bei der qualitativ übereinstimmenden Wirkungsweise dieses Agens mit der wirksamen Substanz des def. Blutes bzw. des Blutserums, glaube ich annehmen zu dürfen, daß diese zweite vasotonisierende Eigenschaft des Oxalatblutes im Normalblut nicht vorhanden und als ein Produkt der Gerinnung zu betrachten ist. Diese soll im folgenden als Gerinnungssubstanz bezeichnet werden. Es bestehen aber anderseits Gründe dafür, daß im Oxalatblut trotz der Hemmung der Blutgerinnung durch das Ca-bindende Agens Prozesse sich abspielen, welche der makroskopisch erkennbaren Gerinnung vorausgehen und für die Bildung dieser Gerinnungssubstanz verantwortlich zu machen sind: So die beobachtete auffallend rasche Gerinnung während des Versuches, wie in Abb. 4; die Zunahme dieser vasoconstrictorischen Eigenschaft des Oxalat-

blutes mit dem Alter, wie schon in früheren Versuchen von Stern und Rothlin[1]) dargelegt wurde. Daraus geht aber weiterhin hervor, daß es mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden ist, ein Oxalatblut zu gewinnen, welches als rein bezeichnet werden kann, d. h. keine vasotonisierende Gerinnungssubstanz enthält. Diese Tatsache dürfte auch die in der bisherigen Literatur bestehenden widersprechenden Ansichten über die wirklichen vasotonisierenden Eigenschaften des normalen Blutes genügend erklären. O'Connor[2]) stieß bei seinen gewissenhaften Untersuchungen am Läwen-Trendelenburgschen Präparate, am überlebenden Darme und Uterus als Testobjekte auf dieselben Schwierigkeiten, die bei der Gewinnung eines reinen Plasmas bestehen. Aber O'Connor konnte auch nachweisen, daß reines Plasma von peripherem Blute auf die genannten Testobjekte entweder gar keine Reaktion oder dann eine Adrenalinwirkung auslöste. Demgegenüber stehen die Versuchsresultate von Loening[3]), welcher findet, daß jedes Plasma bzw. noch ungeronnenes Blut (durch Hirudinzusatz z. B.) vasoconstrictorisch wirkt. Loening läßt dabei allerdings die Frage offen, um was für eine vasoconstrictorische Substanz es sich handelt, er differenziert nicht. Es muß sich aber nach allen seinen Versuchen ausschließlich um die sog. Gerinnungssubstanz handeln. Gegen seinen obigen Schluß sind folgende Einwände zu erheben. Erstens scheint es sich bei Loening im ganzen um einen Versuch mit 2 Parallelgefäßen mit Hirudinblut zu handeln, wobei zweitens in beiden Versuchen während des Experimentes eine Gerinnung des Blutes eintrat und drittens ist der Versuch nicht eindeutig, weil es Loening zu Beginn desselben am nötigen Sauerstoff fehlen ließ, der die im II. Teile des Versuches beobachtete Tonuserhöhung mitbeeinflußte, die letztere also nicht allein auf die tonussteigernde Wirkung des Hirudinblutes bezogen werden darf, wie dies Loening tut. Allein schon die Tatsache der Gerinnung des Blutes während des Versuches hätte eine ganz genaue Kontrolle erfordert, wenn

---

[1]) Stern und Rothlin, Journ. de Physiol. et de Pathol. génér. **18**, 441. 1919.

[2]) J. M. O'Connor, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **67**, 195—232, 1912.

[3]) Loening, Zeitschr. f. Biol. **62**, 54. 1913, und Habilitationsschr. Marburg 1913.

aus dem Versuche wie folgt geschlossen werden soll (S. 114): „Man wird also dem **noch ungeronnenen Blute oder Plasma** örtlich vasotonisierende Eigenschaften keineswegs absprechen dürfen.“ Loening nimmt zwar quantitative Unterschiede in der vasoconstrictorischen Wirkung zugunsten des Blutserums an, sagt aber dann merkwürdigerweise: „Durch eine ausreichende O_2-Versorgung des noch ungeronnenen Plasmas mögen dessen schwächere Leistungen bis zu einem gewissen Grade wenigstens wieder ausgeglichen werden können.“ Ich glaube nicht, daß unter gleichen O_2-Versuchsbedingungen, und das ist als unbedingte Voraussetzung zu fordern, der krasse Unterschied der vasotonisierenden Wirkung zwischen Blutplasma und Blutserum durch einen verschiedenen Einfluß des Sauerstoffes im Plasma und Serum auch nicht bis zu einem gewissen Grade sich ausgleichen kann. Alle meine Versuche sprechen dagegen und Loening bleibt den Beweis dafür schuldig. Darüber aber kann kein Zweifel bestehen, nach dem was ich im allgemeinen Teile über die Wirkung des Sauerstoffes auf isolierte Gefäßstreifen gesagt habe, daß ein solches Gefäß, welches in O_2-armem Ringer sich befindet, nach Ersatz desselben mit Blutplasma + Sauerstoff eine Tonuserhöhung erfahren muß. Diese ist aber nicht notwendigerweise durch die vasotonisierende Substanz des Plasmas, sondern allein schon durch das Plus an Sauerstoff bedingt.

Auf Grund der bisherigen sicheren experimentellen Daten glaube ich annehmen zu können, daß im reinen peripheren Oxalatblute bzw. im Normalblute außer Adrenalin mit Sicherheit keine vasotonisierende Substanz mit einiger Regelmäßigkeit mit den verwendeten biologischen Testobjekten nachweisbar ist. Wirkungen, welche auf andere vasotonisierende Substanzen als auf Adrenalin zurückzuführen sind, werden durch ein vasoconstrictorisch wirkendes Agens bedingt, welches erst bei dem Gerinnungsprozesse entsteht.

Dafür spricht auch die Auffassung jener Autoren, welche die bei der Gerinnung entstehende vasoconstrictorisch wirkende Substanz mit dem Zerfall der Blutplättchen in einen genetischen Zusammenhang bringen wie O'Connor[1]). Zucker und Stewart[2])

[1]) O'Connor, l. c. S. 263.

[2]) Zucker und Stewart, Zentralbl. f. Physiol. **27**, 85. 1913.

und Kaufmann[1]). Denn Extrakte von Blutplättchen zeigten die Wirkung von Blutserum, während das Blutplasma inaktiv war. Daß ferner die Blutplättchen sehr leicht zerfallen, ist bekannt, und daher ist ein teilweiser Zerfall auch schon im Oxalatblute wohl möglich, vor allem wenn die Gewinnung des Blutes nicht mit aller Vorsicht geschieht. Dadurch erklärt sich wohl auch das beobachtete Auftreten von geringen Mengen dieser vasoconstrictorischen Substanz im Oxalatblute.

2. Versuche mit Blutserum.

Die relativ schwache Wirksamkeit des Oxalatblutes bzw. Blutplasmas auf überlebende Gefäßstreifen steht im krassen Gegensatz zur stark tonisierenden Wirkung des Blutserums bzw. des def. Blutes. Darauf hat schon Mosso[2]) im Jahre 1874 aufmerksam gemacht. Aber man möchte sagen, daß dieser Unterschied mit einem gewissen Konservatismus in vielen wissenschaftlichen Arbeiten bis auf heute vernachlässigt wurde, welche die tonisierende Wirkung von Blut und Blutserum zum Gegenstand ihrer Untersuchungen hatten. Die von mir angeführten Beispiele über die Wirkungsweise von Blutserum auf isolierte Gefäße sind in den Abb. 2, 5—7 wiedergegeben. Wir sehen daraus, daß sowohl die Art. coronaris cordis wie die Art. mesenterica durch Blutserum kontrahiert werden, woraus der prinzipielle Unterschied im Vergleich zur Wirkung des Oxalatblutes erhellt. Es geht daraus ganz eindeutig hervor, daß es sich nicht um Adrenalin handeln kann. Von Stern und Rothlin[3]) wurde übrigens nachgewiesen, daß die Wirkung des Blutserums auf die Organe mit glatter Muskulatur überhaupt stets eine tonuserhöhende ist, auch da, wo Adrenalin eine ganz unzweideutige Tonuserschlaffung zur Folge hat. Wenn nun O. B. Meyer[4]), O'Connor[5]), Loening[6]), Günther[7]) u. a. von einer „adrenalinähnlichen" Wirkung sprechen, trotzdem sie sich selbst zum Teil von der entgegengesetzten

[1]) P. Kaufmann, Zentralbl. f. Physiol. **27**, 527. 1913.

[2]) Mosso, Ludwigs Arbeiten (Berichte der sächsischen Gesellsch.) 1874, S. 305.

[3]) Stern und Rothlin, l. c. S. 263.

[4]) O. B. Meyer, Zeitschr. f. Biol. **48**, 352. 1906.

[5]) O'Connor, l. c. S. 263.

[6]) Loening, l. c. S. 263.

[7]) Günther, Zeitschr. f. Biol. **65**, 401. 1915.

Wirkung des Blutserums überzeugt hatten, so führt das zu einer begrifflichen Verwirrung. Denn mit eben demselben Rechte könnte man von einer dem Adrenalin entgegengesetzten Wirkung sprechen. Und wenn Streuli[1]) neuerdings sagt: „Das unbekannte Hormon, das wir dort (im Blutserum) vermuteten, ist mit großer Wahrscheinlichkeit identisch mit Adrenalin, es gibt nichts, das dieser Vermutung widerspräche", dann verweise ich Streuli auf die obengenannten Arbeiten und die experimentellen Daten vorliegender Arbeit. Übrigens wird durch eine sehr einfache Überlegung die Unhaltbarkeit einer solchen Auffassung über die Natur der vasotonisierenden Substanz im Blutserum dargetan.

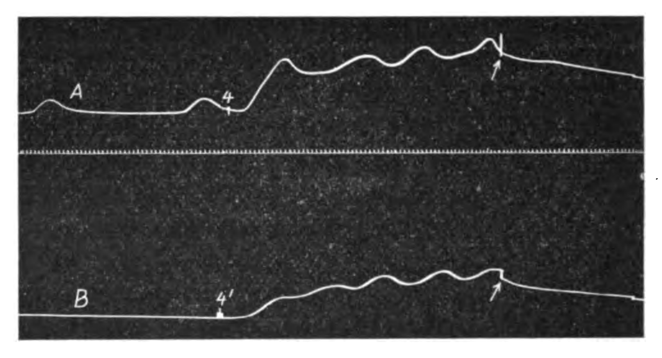


Abb. 5. *A* und *B* sind Parallelstreifen eines Mesenterialgefäßes von einer Kuh. Belastung je 15 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. In Abb. 5 wird zu Gefäß *A* Rinderserum 1 : 50 und zu Gefäß *B* Adrenalin 1 : 1000000 zugesetzt, es erfolgt in beiden Gefäßen ungefähr dieselbe Kontraktion.

In den Versuchen der Abb. 5 ist die Wirksamkeit von Blutserum mit jener von Adrenalin auf dieselben Testobjekte verglichen. Wenn wir aus der Stärke der Verkürzung dieser beiden vasotonisierenden Medien eine Überschlagsrechnung machen, so gelangen wir zu einer Adrenalinkonzentration im Blutserum von 1 : 200 000 und eine solche Konzentration müßten wir dann folglich auch im peripheren Normalblute annehmen, da niemand die Bildung von Adrenalin durch den Gerinnungsprozeß annehmen wird. Kein anderes Argument scheint mir die Unmöglichkeit einer solchen Auffassung so klar zu demonstrieren, wie dieser einfache Versuch. Gestützt auf diese Ausführungen schließen wir, daß die vasoconstrictorische Wirkung des Blutserums bzw. des def. Blutes in toto auf Grund der Verschiedenheiten

[1]) Streuli, Zeitschr. f. Biol. 66, 167. 1916.

in der biologischen Wirkung nicht mit Adrenalin identifiziert werden darf. Dieses aktive Prinzip wirkt zwar auf gewisse Testobjekte „adrenalinähnlich", auf andere aber geradezu entgegengesetzt, es muß daher dasselbe sowohl in seiner biologischen Wirkung als nach seiner chemischen Konstitution als etwas sui generis betrachtet werden.

Über die Wirkungsweise des Blutserums sind ferner noch Ansichten geäußert worden, die hier Erwähnung finden müssen. Loening[1]) sagt S. 63: „daß ein und dasselbe Serum, je nach seiner O_2-Versorgung einen schon vorhandenen Tonus sowohl zu erhöhen als auch zur Erschlaffung zu bringen vermag, daß der Ausfall der Wirkung in beiden Fällen also nur davon abhängig ist, ob die O_2-Sättigung des Serums eine mehr oder weniger vollkommene ist." Ich habe im ersten Teile dieser Arbeit die Auffassung Loenings über den Einfluß des Sauerstoffes auf isolierte Gefäße in Ringerlösung widerlegt. Einen dilatatorischen Einfluß durch Blutserum auf überlebende Gefäßstreifen kann Loening sicher nur dann erzielen, wenn er O_2-armes Serum zu einem Gefäßstreifen hinzugibt, dessen Tonus durch O_2-gesättigten Ringer sehr hoch gehalten war. In diesem Falle handelt es sich aber nicht um einen tonuserschlaffenden Einfluß des Blutserums, sondern es ist dies ein Effekt, welcher durch O_2-Mangel erzielt wird. Ich verweise auf die Abb. 4a, b, c S. 234 der ersten Abhandlung, wo sich die Wirkung des Sauerstoffes in Ringer und in Blutserum sehr deutlich erkennen läßt. Wenn in diesen zwei Versuchen ein geringer quantitativer Unterschied besteht, so handelt es sich eben um zwei ganz verschiedene Milieus, deren Einfluß auf überlebende Gefäße an sich grundverschieden ist. Die Erklärung dafür bietet aber gar keine Schwierigkeiten. Denn Serum enthält eben eine oder mehrere vasotonisierende Substanzen, welche glatte Muskulatur überhaupt zur Kontraktion veranlassen, und diese fehlen selbstverständlich im Ringer. Diese vasotonisierende Substanz des Blutserums kommt aber bei Sauerstoffgegenwart eigentlich erst zur Wirkung, da, wie früher erwähnt, die überlebenden Gefäße nur bei genügender Sauerstoffversorgung eine normale Erregbarkeit aufweisen. Die Ansicht, welche Loening S. 64 äußert: „Es erschien nicht ausgeschlossen, daß nur in einer solchen, die O_2-Übertragung

[1]) Loening, l. c. S. 263.

auf die Zellen resp. eine O_2-Aktivierung besonders begünstigende Eigenschaft des Serums eine Hauptursache seiner tonisierenden Leistungen mit zu finden sei", scheint mir nicht nur ausgeschlossen, sondern die Wirkungsweise des Sauerstoffes auf überlebende Gefäßstreifen einerseits und jene der vasoconstrictorischen Substanz des Blutserums andererseits auf den Kopf stellen. Loening ist konsequent, denn er hält diese eben besprochene Ansicht über die Wirkungsweise des Blutserums auch für andere vasotonisierende Substanzen aus Organextrakten für zutreffend. Nach Loening käme nicht das aktive Prinzip dieser vasotonisierenden Substanzen selbst zur Wirkung, sondern dieselbe bestünde in einer O_2-übertragenden Rolle dieser wirksamen Substanzen. Da in meinen Versuchen der Sauerstoff auch in Ringerlösung stark vasotonisierend auf isolierte Gefäße wirkt, so ist die Annahme einer solchen „O_2-aktivierenden" Rolle von seiten des Blutserums und anderen Organextrakten für die Wirkung des Sauerstoffes überflüssig. Anderseits kann jede an sich indifferente Substanz isolierte Gefäße zu einer Dilatation bzw. Kontraktion führen, wenn wir nur dafür Sorge tragen, daß vor und nach der Applikation derselben die O_2-Versorgung diametral entgegengesetzt gehalten wird. Vasotonisierende Substanzen gelangen aber als solche nur dann zu einer deutlichen Wirkung, wenn das Gefäß stets mit O_2 gut versorgt wird, da das Gefäß nur unter diesen Umständen eine „normale" Erregbarkeit und Reaktionsfähigkeit besitzt.

Battelli[1]) hat ferner im Blutserum verschiedener Tierarten sog. „Vasoconstrictines" von spezifischem Charakter nachgewiesen. In Analogie zu den Immunkörpern, wie den Hämolysinen bestehen diese Vasoconstrictines von Battelli aus zwei Komponenten, dem thermostabilen spezifischen Amboceptor und dem thermolabilen nicht spezifischen Komplement. Die Sera der verschiedenen Tierarten sind, wie Battelli angibt, verschieden stark vasokonstrictorisch aktiv. Gegenüber den Gefäßen des Meerschweinchens, Kaninchens und Hundes besteht im allgemeinen dieselbe Reihenfolge mit abnehmendem Wirkungsgrad: Serum von Rind, Hund, Schaf, Kaninchen und Pferd. Die vasoconstrictorische Wirkung dieser Blutsera kann durch Erwärmen derselben auf 57° während 15 Minuten inaktiviert werden. Das Pferdeserum enthält aber ausschließlich das Komplement, im Gegensatz zu den übrigen Sera. Ein Rinderserum auf 57° während 15 Min. inaktiviert, kann durch Zusatz von an sich inaktivem Pferdeserum (Komplementzusatz) reaktiviert werden. Die Wirkung dieser Vasocon-

[1]) F. Battelli, Journ. de Physiol. et Pathol. génér. 7, 625—638 u. 651—664. 1905.

strictine bezieht sich nach Battelli sowohl auf die Arteriolen, als auf größere Arterien, wie Art. axillaris und femoralis, dieselbe wurde von Battelli auf künstlich durchströmte Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden von der Aorta aus quantitativ untersucht. Ich prüfte nun inwieweit sich dieser an sich sehr interessante Befund von Battelli auch an überlebenden Gefäßstreifen nachweisen ließ. Dazu verwendete ich die vasoconstrictorische Eigenschaft von gewöhnlichem Blutserum, (20 Min. bei 58°) inaktiviertem Serum und enteiweißtem Serum (Filtrat) einer Tierart auf überlebende Gefäßstreifen derselben und einer anderen Tierart. Meine Untersuchungen beziehen sich auf folgende Fälle:

Rinderserum	auf	Gefäße	von	Rind,	Pferd	und	Schwein
Pferdeserum	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Schweineserum	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
Schafserum	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,

Ich gebe im folgenden nur einige Beispiele meiner diesbezüglichen Ergebnisse wieder, da die Resultate in allen Versuchen ohne Ausnahme qualitativ völlig übereinstimmen.

Die untersuchten Sera verschiedener Tierarten auf isolierte Gefäßstreifen zeigen die von Battelli beobachtete spezifische Wirkung in keiner Weise, wie aus den Abb. 6 u. 7 hervorgeht. Die vasoconstrictorische Wirkung eines Blutserums einer Tierart ist ebenso ausgesprochen auf die überlebenden Gefäßstreifen derselben wie anderer Tierarten. Außerdem ist der vasoconstrictorische Effekt eines Blutserums durch den Vorgang der Inaktivierung, sowie durch Enteiweißung gar nicht beeinträchtigt. Denn die erzielte Wirkung ist sowohl qualitativ wie quantitativ identisch, gleichgültig ob wir dabei gewöhnliches, inaktiviertes oder selbst enteiweißtes Blutserum verwenden. Die mit diesen Testobjekten nachgewiesene vasoconstrictorische Substanz aller untersuchten Blutsera ist nicht thermolabil und nicht spezifisch. Von Kaufmann[1]), Stern und Rothlin[2]) ist weiterhin gezeigt worden, daß diese vasotonisierende Substanz des Blutserums alkohollöslich und auch auf die Gefäße des Frosches und des Kaninchenohres wirksam ist. Zugegeben sei, daß in bezug auf die Menge der im Serum vorkommenden aktiven Substanz bei den verschiedenen Tierarten Unterschiede bestehen, ja bei ein und derselben Tierart Schwankungen auftreten. Stets konnte ich aber nachweisen, daß auch das Pferdeserum vasotonisierende Eigenschaften besitzt. Ob die differenten Resultate von Battelli und mir

[1]) Kaufmann, l. c. S. 265.

[2]) Stern und Rothlin, l. c. S. 263.



auf die Verschiedenheit der verwendeten Testobjekte, Battelli durchströmte das gesamte Gefäßsystem des getöteten Tieres von der Aorta aus, zurückzuführen sind, kann ich nicht annehmen, denn es läßt sich kein triftiger Grund dafür finden, warum sich diese Unterschiede nur bei Verwendung von inaktivierten Sera, nicht aber für die gewöhnlichen Sera ergaben. Außerdem müßten die spezifischen Vasoconstrictine von Battelli, welche übrigens sehr intensiv wirkten, auch im normalen Blute vorhanden sein und nicht als ein Produkt der Gerinnung betrachtet werden können. Ich habe oben gezeigt, daß die Intensität der vasotonisierenden Wirkung zwischen Blut und Blutserum qualitativ und

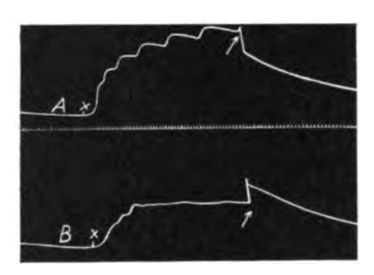


Abb. 6. A. Art. carotis, B. Art. mesenterica von Rind. Belastung 25 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke + wird Serum von Schwein in einer Konzentration von 1: 50 zugesetzt, es läßt in beiden Gefäßen eine Kontraktion aus. Enteiweißtes Serumfiltrat 1 : 50 zu denselben Gefäßen zugesetzt, ergibt gleich starke Kontraktion. Verkl. 1/3.

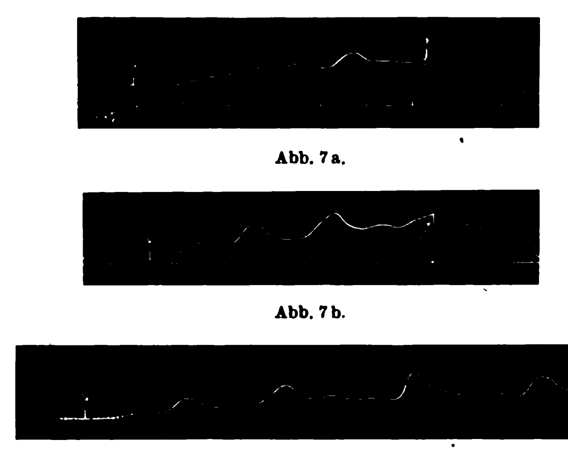


Abb. 7 a.

Abb. 7 b.

Abb. 7 c.

Abb. 7a, b und c. Art. mesenterica von Kuh. Belastung 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke + wie in Abb. a Serum von Schaf 1 : 50, in Abb. b von demselben Serum bei 58° während 20 Min. inaktiviert und bei Abb. c von dem enteiweißten Filtrat in einer Verdünnung von 1 : 50 zugesetzt. In allen drei Versuchen ist der vasoconstrictorische Effekt gleich stark. Verkl. 1/3.

quantitativ verschieden ist, im Blutserum aber zufolge des starken Überwiegens der Gerinnungssubstanz nur der rein vasoconstrictorische Effekt zum Ausdrucke gelangt. Die von Battelli im

Serum gefundenen spezifischen Vasoconstrictine kann ich auf Grund meiner Versuche nicht als spezifische normale Bestandteile des Blutes betrachten, es handelt sich vielmehr bei allen Seren um jene vasoconstrictorisch wirksame Substanz, welche bei dem Gerinnungsprozesse entsteht. Dieses aktive Prinzip findet sich in allen bisher untersuchten Sera, es ist thermostabil, filtrierbar, dialysierbar und alkohollöslich. Dasselbe scheint für alle Sera, wenigstens aus seiner vasoconstrictorischen Wirkung zu schließen, einheitlicher also nicht spezifischer Natur zu sein. Über dessen chemische Konstitution kann heute noch nichts sicheres ausgesagt werden. O'Connor hat auch keine Analysenresultate zur Verfügung, sagt aber: „Wir wollen es aber nicht unterlassen, auf die Ähnlichkeit ihrer Wirkungen mit denen der Base β-Imidazolyläthylamin hinzuweisen.“ Eine solche Auffassung kann ich zwar mit Hinsicht der analogen Wirkungsweise beider vasoconstrictorischen Substanzen teilen, möchte aber daraus nicht auf die chemische Identität schließen. Was die Herkunft der vasoconstrictorischen Substanz im Blutserum anlangt, verweise ich auf das S. 264 Gesagte.

Die vasoconstrictorische Substanz des Blutserums kommt im reinen Oxalatblute nachgewiesenermaßen nicht vor und dasselbe dürfte auch für das Normalblut zutreffen. Diese vasoconstrictorische Eigenschaft des Blutserums hat somit physiologischerweise im Organismus keine funktionelle Rolle. Trotzdem soll hier noch ganz kurz die mehrfache Bedeutung besprochen werden, wozu diese Eigenschaft des Blutserums Veranlassung gibt. Dieselbe ist sowohl theoretischer als praktischer Art. Theoretisch gibt die Tatsache der Bildung einer vasoconstrictorischen Substanz beim Gerinnungsprozeß Anlaß für die Annahme von Spaltungsprozessen bei der Gerinnung des Blutes. Diese vasoconstrictorische Substanz ist ja nicht kolloidal, da leicht dialysierbar und die Ausfällung der kolloidalen Serumbestandteile ändert gar nichts an der Wirksamkeit des Filtrates. Es ist ferner kaum anzunehmen, daß das Entstehen dieser Substanz durch den bloßen Zerfall der Blutplättchen bedingt ist, da es schwer erklärlich wäre, wieso die leicht dialysierbare Substanz im Normalblut nicht frei vorkommt. Es müßte denn eine semipermeable Membran bei den betreffenden Zellen für diese Substanz existieren, oder beim

Zerfall dieser Zellen die an kolloidale Teilchen adsorbierte vasoconstrictorische Substanz frei werden. Die Entstehung durch hydrolytische Spaltung scheint mir bei unserer heutigen Auffassung über den Gerinnungsvorgang das Wahrscheinlichere. Die praktische Bedeutung ist einmal, wenn wir so sagen dürfen, eine teleologische, indem beim Gerinnungsvorgang neben der Ausbildung eines Koagulums als mechanisches Hindernis für die weitere Blutung, eine vasoconstrictorisch wirksame Substanz entsteht, welcher eine hämostatische Bedeutung zukommen dürfte. Darauf hat auch O'Connor aufmerksam gemacht. Weiterhin ist die Tatsache zu erwähnen, daß bei Versuchen mit künstlicher Durchblutung die Verwendung von Serum als Durchströmungsflüssigkeit, oder Blutserum als Lösungsmittel für andere zu untersuchende vasotonisierende Substanzen durch die Vernachlässigung der Existenz der vasoconstrictorischen Substanz des Blutserums große Irrtümer entstehen können.

3. Untersuchungen über die Wirkungsweise des Adrenalins auf überlebende Gefäße verschiedener Organgebiete und verschiedener Tierarten.

Bei der Tatsache, daß Adrenalin im normalen Blute nachgewiesen werden kann, muß uns die Wirkungsweise dieses chemisch definierten Hormons auf die überlebenden Gefäße besonders interessieren. Bei den schon bestehenden sehr zahlreichen Versuchsdaten auf diesem Gebiete, werde ich den gesamten Untersuchungsgegenstand zugunsten einer besseren Übersicht nach Gefäßgebieten abhandeln, welches Einteilungsprinzip sich mir als das zweckmäßigste ergab. Diese Untersuchungen beziehen sich auf folgende überlebende Gefäßgebiete: auf die Gefäße der Extremitäten und des Magen-Darmtraktus, auf die Nierengefäße, auf die Herzkranz- und Lungengefäße. Eine zusammenfassende Übersicht der Wirkungsweise des Adrenalins auf die verschiedenen Gefäßgebiete ist in der tabellarischen Darstellung auf S. 320 wiedergegeben.

a) Versuche über den Einfluß des Adrenalins an überlebenden Gefäßen der Extremitäten und des Magen-Darmtraktus.

Meine Versuche mit isolierten Gefäßstreifen der Art. subclavia, carotis, brachialis, femoralis vom Typus bovinus und equinus haben mir auf Adrenalin regelmäßig eine Verkürzung

ergeben. Diese Resultate stehen in vollem Einklang mit den Ergebnissen von Meyer[1]), Siccardi und Loredan[2]), Cow[3]) und Barbour[4]). Meine Bemühungen durch feine Abstufung der Adrenalindosen bei den genannten Gefäßstreifen eine primäre Erschlaffung zu erzielen, waren alle ohne Erfolg. Stets trat bei jedem überschwelligen Adrenalinreiz eine Verkürzung des Gefäßstreifens ein. Die Kontraktionskurve bei diesen Testobjekten durch Adrenalin war, wie oben im allgemeinen Teile schon erwähnt, dadurch charakterisiert, daß der Tonusanstieg relativ rasch eintrat und nach erreichtem Maximum der Verkürzung nach stark wirksamen Dosen selbst stundenlang anhielt, trotzdem das Adrenalin aus der Versuchsflüssigkeit durch Auswaschen entfernt worden war (Abb. 10 im ersten Teile S. 244). Ganz analoge Resultate erzielte ich an der Froschhinterextremität nach vollständiger Zerstörung des Zentralnervensystems und der Durchschneidung des Nervus ischiadicus. Nie sah ich hier eine primäre Erweiterung auftreten.

Pari[5]) berichtete von einer Gefäßerweiterung bei Durchströmungsversuchen der Hinterextremität von Kaninchen, sagt aber: „Ce résultat nous permet de penser, que l'adrénaline même à doses extrêmement petites ne fait jamais diminuer la pression, tandisque des vieilles solutions altérées auraient cette action". Die von Pari beobachtete Gefäßerweiterung trat auch nur sehr selten auf und dürfte andere Ursachen haben als einen Adrenalinreiz. Ogawa[6]), welcher an überlebenden Hautmuskelgefäßen von Kaninchen mit Dosen von 1ccm Adrenalin von 1 : 10 000 000 eine kräftige Kontraktion erzielte, konstatierte aber, daß dieselbe von einer sekundären Gefäßerweiterung gefolgt war, welche, wie Ogawa bemerkt: „in allen Fällen eintritt, wenn man lang genug wartet". Eine primäre Erweiterung konnte er aber weder beim Kaninchen noch bei der Froschhinterextremität nachweisen. Was diese sekundäre Erweiterung anlangt, so beobachtete auch ich eine solche ab und zu sowohl bei überlebenden Gefäßstreifen, als bei der Froschhinterextremität. Dabei zeigte es sich aber in der Regel, daß der Gefäßtonus vor der Applikation des Adrenalins hoch war und der niedere Tonus nach dem Adrenalinreiz anhielt. Auf die

[1]) O. B. Meyer, l. c. S. 265.

[2]) Siccardi und Loredan, Zeitschr. f. allg. Physiol. **15**, 85. 1913.

[3]) D. Cow, Journ. of physiol. **42**, 125. 1911.

[4]) H. S. Barbour, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **68**, 41. 1912.

[5]) G. A. Pari, Arch. di Pharm. sperim. **4**, 161. 1905, und Arch ital. de Biol. **46**, 209. 1905.

[6]) Ogawa, Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. **67**, 89. 1912.

Gefäßerweiterung, wie sie von Dale[1]) nach Ergotoxineinwirkung, Bauer und Fröhlich[2]) nach Applikation von toxischen Adrenalindosen und Pearce[3]) nach Durchströmung mit Ca-freier Ringerlösung beobachtet haben, gehe ich an dieser Stelle nicht ein, diese Befunde werden uns in einer späteren Abhandlung beschäftigen. Auch am isoliert durchströmten Kaninchenohr gelang es mir ebensowenig wie del Campo[4]), durch Adrenalin eine Gefäßerweiterung zu erzielen.

Was die Gefäße des Magen-Darmtraktus anlangt (Art. mesenterica sup. und inf., Art. gastrica, sowie der Art. splenica), so verhielten sich dieselben gegenüber Adrenalin ganz analog, wie die Gefäße der Extremitäten. Auch gelang es mir nicht beim Frosche, bei Durchströmung desselben von der Aorta aus unter Abklemmen der Aorta abdominalis, eine dilatatorische Wirkung durch Adrenalin im Splanchnicusgebiete zu erzielen. Nach Ogawa „ist dagegen gerade an den Darmgefäßen eine primäre Erweiterung ohne vorangehende Verengerung bei Einwirkung von verdünnten Adrenalinlösungen (eine primäre Erweiterung) einwandfrei zu beobachten". Die Resultate von Ogawa beziehen sich auf Durchströmungsversuche an überlebenden Darmpartien von Kaninchen, Katzen und Hunden. Dieser gegensätzliche Befund zwischen den Ergebnissen von Ogawa und den meinen an isolierten Gefäßstreifen des Magen-Darmtraktus lassen sich evtl. darauf zurückführen, daß sich meine Versuche nur auf relativ große Arterien beziehen, während bei Ogawa auch die kleinen Arterien und Capillaren mit in den Untersuchungsbereich gezogen waren. Weiterhin besteht die Möglichkeit, daß bei den isolierten Gefäßen der dilatatorische Mechanismus überhaupt sich nicht gut konserviert. Die vasoconstrictorische Beeinflussung der Milzarterien durch Adrenalin stimmen mit den Versuchsergebnissen von Ott und Scott[5]) überein, welche auf onkometrischem Wege in vivo ebenfalls eine Gefäßverengerung nachgewiesen haben. Resümierend können wir sagen, daß die isolierten Arterienstreifen der Extremitäten des Typus bovinus und equinus, die Gefäße der Froschhinterextremität, des

[1]) H. H. Dale, Journ. of physiol. **34**, 1906.

[2]) Bauer und Fröhlich, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **84**, 33. 1918.

[3]) Pearce, Zeitschr. f. Biol. **62**, 243. 1913.

[4]) Del Campo, Zeitschr. f. Biol. **69**, 111. 1918.

[5]) Ott und Scott, Proc. Soc. experim. Biol. a. Med. **11**, 32. 1913.

isoliert durchströmten Kaninchenohres, die Art. mesent. gastrica und splenica, sowie die Splanchnicusgefäße des Frosches durch Adrenalin ausschließlich kontrahiert werden. Eine primäre Erweiterung dieser Gefäße konnte auch bei kleinsten Adrenalindosen nie erzielt werden.

b) Versuche über den Einfluß des Adrenalins auf die isolierten Nierengefäße.

Die folgenden Versuche der Abb. 8—10 an isolierten Gefäßstreifen der Nierenarterien vom Typus bovinus geben uns Aufschluß darüber.

Eine aufmerksame Durchsicht dieser experimentellen Daten über die Wirkungsweise des Adrenalins auf die überlebenden

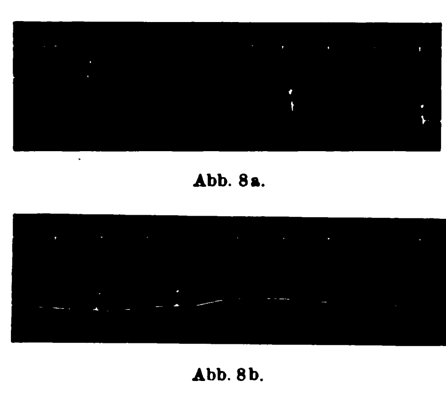


Abb. 8a.

Abb. 8b.



Abb. 8c.

Abb. 8a, b und c. Art. renalis proximaler Arterienstreifen. Belastung 25 g. Zeitmarkierung alle Minuten. Bei der Marke 3 wird Adrenalin in einer Konzentration von 1 : 5 000 000 zugesetzt, worauf eine Gefäßerschlaffung eintritt. In der Abb. b wird bei der Marke 4 Adrenalin 1 : 1 000 000 und bei der Marke 4′ Adrenalin 1 : 500 000 zugefügt, bei 4 verkürzt sich der Gefäßstreifen nur ganz schwach, bei 4′ dagegen etwas stärker. Die Dauer der Kontraktion ist sehr kurz. In der Abb. c erfolgt bei der Marke 6 auf Adrenalin 1 : 200 000 eine sehr kräftige Verkürzung des Gefäßes, die von rel. langer Dauer ist. Hier ↑ wird ausgewaschen, was auf den Verlauf der Kurve ohne Einfluß ist. Verkl. $^1/_2$.

Nierenarterien vom Typus bovinus führt uns zu folgenden Schlüssen:

1. Die Erregbarkeit der Nierengefäße gegenüber Adrenalin kann im Vergleich zu den anderen Gefäßstreifen als normal bezeichnet werden.

2. Die isolierten Nierenarterien können durch Adrenalin sowohl dilatiert als kontrahiert werden. Der jeweilige Erfolg ist eine Funktion der Adrenalinkonzentration, kleinste Dosen dilatieren, stärkere Dosen kontrahieren.

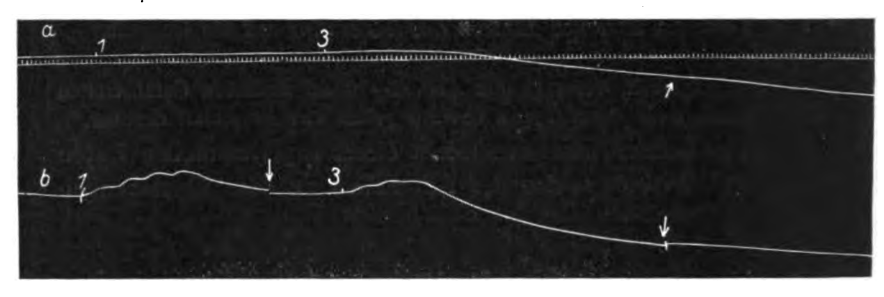


Abb. 9. a distaler, b proximaler Arterienstreifen einer Nierenarterie von Kuh. Belastung je 20 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Bei der Marke 1 wird in Abb. a zu beiden Gefäßstreifen Adrenalin 1 : 25 000 000 zugesetzt, worauf nur bei Gefäß b eine rasch vorübergehende Kontraktion erfolgt, die von rhythmischen Schwankungen begleitet ist. Bei der Marke 3 wird bei den Gefäßen Adrenalin 1 : 5 000 000 appliziert, beide Gefäße kontrahieren sich erst, das Gefäß a kaum sichtbar, Gefäß b sehr deutlich, aber nur flüchtig, in beiden Testobjekten erfolgt sodann eine starke Erschlaffung. Verkl. $^1/_2$.

3. Die Arterienstreifen sowohl des proximalen als des distalen Abschnittes der Nierenarterien verhalten sich gegenüber Adrenalin ganz gleich

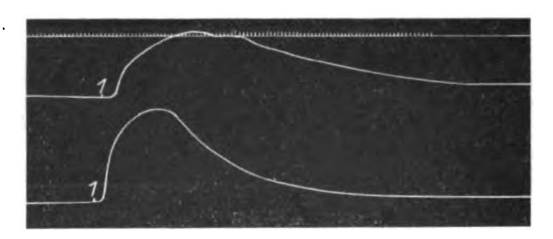


Abb. 10. Das obere Gefäß ist ein distaler, das untere Gefäß ein proximaler Streifen einer Nierenarterie von einem Rind. Belastung je 20 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Bei der Marke 1 wird zu beiden Gefäßen Adrenalin 1 : 1 000 000 zugesetzt. Es erfolgt in beiden Gefäßen eine sehr kräftige Verkürzung, die besonders bei Gefäß b rasch das Maximum erreicht, um dann rasch den ursprünglichen Tonus wieder zu erreichen. Bei dem Gefäß a sind beide Phasen etwas gedehnter. Verkl. $^1/_2$.

Diese Schlüsse sollen durch eine Betrachtung der angeführten Beispiele belegt werden. Im allgemeinen Teile wurde ausgeführt, daß eine Erregbarkeit überlebender Arterienstreifen für Adrenalin innerhalb Dosen von 1 : 10 000 000 als normal bezeichnet werden kann. Dies trifft in der Tat für die Nierengefäße zu. Der zweite

von uns gezogene Schluß ist für uns wohl der interessanteste. Die Abb. 8 u. 9 sind sichere Belege dafür, daß dieselben Nierengefäße durch Adrenalin einerseits dilatiert, anderseits auch kontrahiert werden können. Ein Vergleich der angewandten Adrenalindosen in diesen Versuchsbeispielen mit vasodilatatorischem und vasoconstrictorischem Erfolge ergibt, daß die geringeren Dosen dilatieren, die stärkeren dagegen kontrahieren, somit der jeweilige Adrenalineffekt als eine Funktion der Adrenalinkonzentration betrachtet werden muß. In dieser Hinsicht erfordert der Versuch in der Abb. 8 keinen weiteren Kommentar. Dagegen erscheint das Ergebnis in dem Versuche der Abb. 9 nicht so eindeutig. Es besteht hier in erster Linie ein scheinbarer Unterschied zwischen dem distalen und proximalen Gefäßstreifen. Der distale Streifen folgt der eben beschriebenen Regel. Der proximale Streifen erfährt auf Adrenalin 1 : 25 000 000 eine Tonuserhöhung, begleitet von rhythmischen Schwankungen und auf Adrenalin 1 : 5 000 000 eine geringe Verkürzung mit nachfolgender ausgesprochener Erschlaffung. Diese scheinbare Unstimmigkeit findet ihre Lösung in der Tatsache, daß dieser Arterienstreifen schon in O_2-Ringer rhythmische Schwankungen aufwies, was in der Abb. 9 auf S. 243 der ersten Abhandlung für ein Beispiel von spezieller Form von Rhythmik wiedergegeben ist. Der geringste Reiz durch eine vasotonisierende Substanz auf ein Gefäß mit rhythmischer Tätigkeit in Ringerlösung hat aber auf Grund unserer Analyse über den Rhythmus und dessen Auftreten bei isolierten Gefäßen die Auslösung oder eine Verstärkung dieser Erscheinung zur Folge. In diesem Sinne sind die beiden Tonuserhöhungen in der Abb. 9 bei der Marke 1 u. 3 nicht als eigentliche Kontraktionen durch einen vasoconstrictorischen Reiz zu betrachten, sondern als einen Ausdruck von rhythmischen Erscheinungen auf einen vasotonisierenden Reiz. Es ist nun zu bemerken, daß eine solche beschriebene primäre Gefäßerschlaffung durch Adrenalin nicht bei allen Nierenarterien erzielt werden konnte und dieselbe, wenn überhaupt auslösbar, in der Regel nur zu Beginn der Versuche bei demselben Gefäße auftrat. Wenn nun kleinste Adrenalindosen auf überlebende Nierengefäße eine Dilatation, größere Dosen aber eine Kontraktion desselben Gefäßes hervorrufen, so führt eine einfache Überlegung zur Frage, ob sich für solche Gefäße eine Adrenalinkonzentration finden läßt, welche die Resultante dieser

beiden Effekte darstellt, d. h. gibt es eine mittlere Adrenalinkonzentration, welche diese Nierengefäße nicht beeinflußt? Diese Frage kann ich durch die experimentellen Ergebnisse in bejahendem Sinne beantworten. So zeigt das Gefäß in Abb. 8 b auf Adrenalin 1 : 1 000 000 nur eine ganz schwache Kontraktion, während eine niedrigere Adrenalindosis eine Dilatation, eine stärkere Dosis eine erhebliche Kontraktion zur Folge haben. Bei der Tatsache, daß Adrenalin bei isolierten Nierengefäßen sowohl den dilatatorischen als den constrictorischen Mechanismus zu erregen vermag, war zu untersuchen, ob diese doppelte Beeinflussung nicht auch in der Form der Kurven nach scheinbar ausschließlich constrictorisch wirksamen Adrenalindosen zur Geltung kam. Dies gelangt in der Abb. 8—10 zur Illustration. Die beiden Gefäße in der Abb. 10 erfahren durch Adrenalin 1 : 1 000 000 eine ganz kräftige Kontraktion, aber nach erreichtem Maximum des Tonusanstieges fällt der Schreibhebel besonders beim Gefäße b in sehr raschem Tempo wieder auf die ursprüngliche Abscisse zurück. Die Erschlaffungsphase ist nicht wesentlich länger als die Kontraktionsphase, eine Erscheinung, wie wir dies bei überlebenden Gefäßen nicht zu sehen gewohnt sind. Bei Nierengefäßen registriert man ferner oft eine dritte Phase, indem die Gefäße auf einen tonuserhöhenden Adrenalinreiz, nachdem sie den ursprünglichen Tonus wieder erreicht haben, sich noch weiter erschlaffen, also eine Phase der sekundären Erschlaffung aufweisen. Diese Erscheinungen, der rasche Eintritt der Erschlaffungsphase nach erreichtem Maximum der Verkürzung und die sekundäre Erweiterung im Anschluß an die normale Erschlaffungsphase sind zwei charakteristische Merkmale des Erregungsablaufes überlebender Nierenarterien auf Adrenalindosen, welche eine primäre Kontraktion auslösen. Die Erklärung dieser Erscheinungen finden wir wohl in der oben belegten Tatsache, daß Adrenalin sowohl den dilatatorischen als constrictorischen Mechanismus der Nierengefäße zu erregen vermag, wodurch zufolge deren antagonistischen Wirkung der flüchtige Verlauf der Kontraktion bzw. die sekundäre Dilatation bedingt ist. Schließlich geht aus den wiedergegebenen Versuchen hervor, daß die überlebenden Nierengefäße in ihrer ganzen Ausdehnung sowohl im proximalen als distalen Abschnitte sich gegenüber Adrenalin ganz identisch verhalten. Wir sehen,

daß die oben gezogenen Schlüsse auf Grund unserer Experimentergebnisse zu Recht bestehen.

Versuche über die Wirkungsweise von Adrenalin an überlebenden Nierengefäßen sind mir aus der Literatur von Cow[1]) bekannt. Der Autor findet, daß diese Gefäßstreifen durch Adrenalin in eindeutiger Weise nur vasoconstrictorisch beeinflußt werden. Es ergibt sich somit ein scheinbarer Widerspruch mit meinen Daten, da ich ganz unzweideutig durch Adrenalin unter gewissen Bedingungen eine Erschlaffung der Nierenarterien erzielen konnte. Aber bei den Versuchsbedingungen von Cow, welcher für alle seine Versuche mit Adrenalin in stereotyper Weise eine Konzentration von 1 : 100 000 verwendete, ist nach allem, was wir nun über die Wirkungsweise des Adrenalins bei Nierengefäßen beobachtet haben, kein anderes Resultat zu erwarten. Mit so starken Konzentrationen konnte auch ich ausschließlich eine Verkürzung dieser Gefäße konstatieren, wobei dann de Kontraktion ebenfalls von langer Dauer war, wie dies die Abb. 8b zur Darstellung bringt. Cow differenziert nicht und seine gezogenen Schlüsse dürfen daher keine allgemeine Gültigkeit beanspruchen, seine Ergebnisse müssen intensiv, d. h. für die angewandten Dosen interpretiert werden. Unter diesen Umständen besteht zwischen seinen und meinen Resultaten volle Übereinstimmung. Ich möchte aber bemerken, daß solche hohe Adrenalindosen, wie sie Cow verwendet, nicht mehr als physiologische bezeichnet werden dürfen und daß unter solchen Bedingungen Schlüsse über die physiologische Wirkungsweise des Adrenalins auf die Gefäße mit großer Vorsicht zu verwerten sind.

Wenn wir unsere Resultate mit jenen Versuchsergebnissen vergleichen, welche von andern Autoren an künstlich durchströmten Nieren erhalten wurden, so finden wir zum Teil eine glatte Übereinstimmung mit meinen Ergebnissen. Jonescu[2]) spricht von einer besonders hohen Empfindlichkeit der Nierengefäße gegenüber Adrenalin, da er auf onkometrischem Wege nach intravenöser Injektion von Adrenalin bei Kaninchen schon eine Volumenabnahme der Nieren konstatieren konnte, wenn der arterielle Blutdruck noch vollständig unverändert blieb. Pari[3]) beobachtete bei seinen Versuchen bei künstlich durchströmten Nieren in einem Falle eine Gefäßerweiterung, welche aber der Autor wie bei den Gefäßen der Extremitäten nicht auf Adrenalin, sondern auf Zersetzungsprodukte desselben bezog. Pentimalli und Quercia[4]) sagen auf Grund ihrer Versuche bei künstlich durchströmten Nieren: „L'adrénaline exerce presque une action spécifique sur les vaisseaux du rein“. Dabei ließen die Autoren Adrenalindosen von 1 : 100 000 bis 1 : 300 000 während Minuten durch die Gefäße fließen. Es erscheint mir daher etwas kühn, unter diesen Umständen von einer spezifischen Wirkung des Adrenalins auf die Nieren-

[1]) D. Cow, l. c. S. 273.

[2]) Jonescu, Wien. klin. Wochenschr. 1908, S. 513.

[3]) Pari, l. c. S. 273.

[4]) Pentimalli und Quercia, Arch. ital. de biol. 58, 33. 1912.

gefäße zu sprechen, nachdem selbst isolierte Gefäßstreifen auf Dosen von 1 : 20—50 000 000 reagieren. Eine genaue Durchsicht der Versuchsresultate dieser Autoren läßt aber noch methodische Mängel vermuten. Denn wenn in einem Versuche das Durchflußvolumen schon normalerweise bei den verschiedenen Versuchen so erhebliche Differenzen aufweist, daß z. B. bei einem Hund von 10 kg 9—27 ccm, bei einem Kaninchen 1,6 kg 200 ccm pro 10 Min. durchfließen, so scheint mir die physiologische Variationsbreite mehr als überschritten und ich glaube, die Schlußfolgerung der Autoren „la sensibilité de l'appareil circulatoire du rein envers cette substance est en effect très grande et l'on comprend facilement, quelles graves lésions fonctionelles et anatomiques du rein peuvent se produire, lorsque avec le sang circule un excès d'adrénaline capables de produire de longues et fortes vasoconstrictions dans cet organe", dahin berichtigen zu dürfen, daß Pentimalli und Quercia auf sehr starke, ja selbst toxische Dosen Adrenalin eine starke Gefäßverengerung der Nierengefäße beobachtet haben. Besser wird die Ansicht von Jonescu durch die Versuche von Ogawa[1]) gestützt, welcher mit derselben Methodik bei Hund, Katze und Kaninchen mit Adrenalindosen von 1 : 40—50 000 000 eine primäre Erweiterung und mit Dosen von 1 : 5 000 000 regelmäßig eine Verengerung der Nierengefäße erzielte, welche im letzteren Falle nicht selten von einer sekundären Gefäßerweiterung gefolgt war. Ogawa sagt daher, „daß Adrenalin die receptiven Substanzen der Vasoconstrictoren und der Vasodilatatoren in Erregungszustand versetzt". Meine Ergebnisse an isolierten Nierenarterien bestätigen die Resultate von Ogawa voll und ganz. Versuche in vivo sind mir außer den genannten keine bekannt. Aber die Tatsache, daß Adrenalin die überlebenden Gefäße der Niere je nach der angewandten Dosis sowohl zu erweitern als zu verengern vermag, läßt vermuten, daß dies auch unter normalen Verhältnissen zutreffen dürfte.

c) Versuche über den Einfluß des Adrenalins auf isolierte Herzkranzgefäße.

Langendorff[2]) versuchte 1907 die widersprechenden Resultate von Maas[3]) und Schäfer[4]) über die Innervation der Herzkranzgefäße zu lösen. Denn während Maas auf Grund seiner Experimente am isoliert durchströmten in situ gelassenen Herzen durch elektr. Reizung der zum Herzen führenden Nerven die Constrictoren dem Vagus (wenigstens hauptsächlich), die Dilatatoren dem Sympaticus zuschrieb, gelangte Schaefer bei demselben methodischen Vorgehen zu einem negativen Resultate. Letzterer fand ferner, daß auch Adrenalin unter diesen Versuchsbedingungen ohne Einfluß auf das Durchflußvolumen der Kranzarterien war. Nach den erfolglosen Versuchen am isoliert durchströmten Herzen ver-

[1]) Ogawa, l. c. S. 273.
[2]) O. Langendorf, Zentralbl. f. Physiol. **21**, 551. 1907.
[3]) Maas, Arch. f. d. ges. Physiol. **74**, 281. 1899.
[4]) E. A. Schäfer, Arch. des sciences biol. 1904, 251.

suchte Langendorff an überlebenden Herzkranzarterien mit der Gefäßstreifenmethode zu einem Resultate zu gelangen. Als geeignetes Testobjekt fand Langendorff die Gefäße vom Rind und seine diesbezüglichen Resultate faßt er wie folgt zusammen: „Diese Versuche an den Coronararterien haben nun das auf den ersten Blick unerwartete Resultat ergeben, daß durch Suprarenin oder Adrenalin zuweilen, doch nur selten, gar keine Wirkung, meistens aber eine unzweifelhafte, oft recht beträchtliche Verlängerung des Gefäßstreifens eintritt." Daraus schließt Langendorff weiter: „daß die Kranzgefäße des Herzens vom Sympathicus mit gefäßerweiternden Fasern versehen werden". Diese erschlaffende Wirkung des Adrenalins auf isolierte Gefäßstreifen der Herzkranzgefäße ist dann von verschiedenen Autoren bestätigt worden, so von Meyer, Cow, Barbour, Parke, Siccardi und Loredan, Loening. Ich gebe im folgenden erst die Resultate meiner Untersuchungen, worauf die Diskussion derselben folgt.

Der Einfluß von Adrenalin auf überlebende Gefäßstreifen der Herzkranzarterien verschiedener Tierarten ist nicht gleichsinnig, wie die Abb. 11 u. 12 wiedergeben. Bei den Herzkranzgefäßen des Typus bovinus: Rind, Kuh, Ochs, Stier, kann mit jeder Regelmäßigkeit bei richtiger Technik durch Adrenalin eine Erschlaffung des Gefäßstreifens erzielt werden. Beim Typus equinus dagegen werden dieselben Gefäße durch Adrenalin kontrahiert (Abb. 12). Daß es sich bei meinen Untersuchungen nicht um eine zufällige Umkehr der Adrenalinwirkung bei der Pferdherzarterie handelt, beweist die regelmäßige Wiederkehr dieser Wirkungsweise von Adrenalin bei 30 Herzkranzarterien von Pferden verschiedenen Alters und verschiedener Rasse; außerdem kann diese constrictorische Adrenalinwirkung bei demselben Gefäße stets mehreremal mit demselben Erfolge wiederholt werden. Differenzen der Adrenalinwirkung bei diesen zwei Tierarten bestehen aber nicht nur in qualitativer, sondern auch in quantitativer Hinsicht. In den Abb. 11 u. 12 habe ich die Längenmaße und den red. Verlängerungs- bzw. Verkürzungsgrad der beiden Arterienstreifen angegeben. Wird für beide Gefäße die Längenveränderung durch Adrenalin in Prozenten ausgedrückt, so erreicht die Herzkranzarterie vom Rind eine Verlängerung von 24%, diejenige vom Pferd eine Verkürzung von ca. 10%. Solche quantitative Unterschiede konnte ich für diese beiden Gefäßtypen regelmäßig nachweisen, trotzdem die Länge der Herzkranzgefäße vom Typus equinus diejenige vom Typus bovinus stets übertraf und die Empfindlichkeit der beiden Gefäßtypen

gegenüber Adrenalin gleich war. Der Versuch in der Abb. 12 gibt übrigens die größte bei Pferdegefäßen beobachtete Kontraktion wieder. Es gelang mir auch nie, selbst durch sehr starke Adrenalindosen eine stärkere Verkürzung der Pferdegefäße zu erwirken. Eine weitere eigenartige Erscheinung an der Herzkranzarterie des Pferdes ist die meist stundenlang anhaltende Verkürzung eines durch Adrenalin zur Kontraktion versetzten Streifens trotz mehrmaligem Auswaschen mit Ringerlösung.

Abb. 11. Art. coronaris cordis von Rind. Belastung 20 g. Zeitschreibung alle 5 Sek. Bei der Marke 2 wird Adrenalin 1:1 000 000 zugesetzt, worauf nach ca. 40 Sek. eine erhebliche Gefäßerweiterung erfolgt. Die Länge des Gefäßes beträgt im ursprünglichen Tonuszustand im Ringer 10 mm, die Verlängerung des Gefäßes nach 10 Min. 12 mm, bei einer fünffachen Vergrößerung, also red. 2,4 mm. Die wirkliche Verlängerung des Gefäßes beträgt somit 24%. Verkl. 1/2.

Abb. 12. Art. coronaris cordis von Pferd. Belastung des Gefäßes 20 g. Zeitmarkierung alle 5 Sek. Bei der Marke 1 wird Adrenalin 1:1 000 000 zugesetzt, worauf nach ca. 10 Sek. Latenzzeit eine Gefäßverengerung erfolgt. Diese beträgt 10 Min. nach Applikation des Reizes 7 mm, red. 1,4 mm. Die Länge des Gefäßstreifens im ursprünglichen Tonuszustand ist 15 mm. Die Gesamtverkürzung aufgerundet 10%. Verkl. 1/2.

Die Herzkranzarterien vom Typus bovinus verhalten sich in dieser Beziehung wie die übrigen Gefäße, z. B. der Extremitäten. Der diesbezügliche Unterschied bei den beiden Herzkranzgefäßtypen gelangt auch in den Abb. 11 u. 12 zum Ausdrucke, wo das Gefäß vom Rind nach dem Auswaschen sich allmählich in den ursprünglichen Tonus begibt, während das Gefäß vom Pferd nach dem Auswaschen sich selbst noch verkürzt. Es besteht somit zwischen diesen beiden Gefäßtypen sowohl eine qualitative als eine quantitative Diskrepanz. Eine Erklärung dieser letzteren Erscheinung versuche ich auf folgende Weise. Schon die makroskopische Betrachtung der beiden Gefäßtypen ließ eine offensichtliche Verschiedenheit in der anatomischen Struktur vermuten. Die histologische Untersuchung ergab, daß die quan-

titative Diskrepanz der beiden Gefäße ihre Ursache wahrscheinlich in dem verschiedenen Massenverhältnis von muskularem und elastischem Gewebe hat. Während die Herzkranzarterie vom Typus bovinus in der Media eine kräftig ausgebildete Muscularis besitzt, ist bei dem Typus equinus das elastische Gewebe relativ bedeutend stärker entwickelt als die contractile Komponente. Für die qualitative Diskrepanz dürfte in der verschiedenen anatomischen Struktur der beiden Gefäßtypen eine annehmbare Erklärung gefunden sein.

Dieser Befund, daß die Herzkranzgefäße verschiedener Tierarten auf Adrenalin gegensinnig reagieren, veranlaßte mich, eine systematische Untersuchung über die Reizschwelle und den Einfluß verschiedener Konzentrationen auf dieselben Gefäße vorzunehmen. Denn es bestand doch die Möglichkeit, daß dieses qualitative verschiedene Verhalten der beiden Gefäßtypen sich in einfacher Weise durch einen evtl. differenten Einfluß verschiedener Adrenalinkonzentrationen aufklären ließe. Diese Vermutung hat sich aber nicht erfüllt. Nie konnte bei Herzkranzarterien vom Pferd eine andere Beeinflussung der Reaktionsrichtung durch Abstufung der Adrenalindosen registriert werden als die beschriebene. Jeder überschwellige Adrenalinreiz ließ mich immer nur eine Kontraktion des Gefäßes konstatieren. Die erste wirksame Dosis fand ich bei 1 : 20 000 000. Auffallend war dabei, daß der Adrenalineffekt bei der Herzkranzarterie durch eine eben wirksame Dosis maximal ausfiel, denn 10—50fach stärkere Dosen erzielten kaum eine intensivere Kontraktion. Man ist versucht, daran zu denken, daß hier ein eindeutiger Fall des „Alles oder Nichts-Gesetzes“ vorliegt. Die analoge Untersuchung bei den Herzkranzgefäßen vom Typus bovinus ergab etwas andere Re-

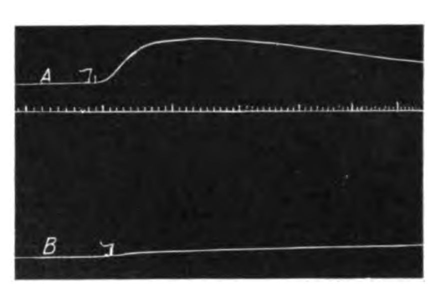


Abb. 18. Art. mesent. B. art. conoraris cordis von Kuh. Belastung je 20 g. Zeitmarkierung alle Minuten. Bei der Marke 1 in Abb. 7a wird Adrenalin 1 : 5 000 000 zugesetzt. Gefäß *A* (mesenter.) wird kräftig kontrahiert, Gefäß *B* (coron.) dagegen weist eine eben merkliche Kontraktion auf. Die Wiederholung des Versuches mit derselben Adrenalindosis ergibt dasselbe Resultat. Eine Adrenalindosis von 1 : 1 000 000 hatte dagegen bei dem Gefäß b (coron.) einer erhebliche Verlängerung zur Folge.

sultate. Es gelang mir dreimal, mit jeder Deutlichkeit und angewandter Kontrolle durch eben überschwellige Adrenalinreize statt einer erwarteten Dilatation eine ganz schwache Kontraktion auszulösen. Dieser Erfolg konnte an denselben Gefäßen auch wiederholt werden, wie dies in der Abb. 13 illustriert ist. Stärkere Adrenalindosen hatten aber dann bei denselben Gefäßen wieder die typische Verlängerung der Gefäße zur Folge. Wenn es mir auch nur selten gelang, eine solche Kontraktion primär durch Adrenalin bei der Herzkranzarterie des Typus bovinus zu erzielen, so weist doch die charakteristische Adrenalinkurve bei Herzkranzgefäßen vom Typus bovinus Eigenschaften auf, welche dafür sprechen, daß Adrenalin auch hier sowohl den constrictorischen als dilatatorischen Mechanismus zu erregen vermag. So zeigt die Adrenalinkurve beim Typus bovinus eine lange Latenzzeit, die das 3—5fache jener eines Mesenterialgefäßes beträgt, wie die Abb. 11—13 zur Anschauung bringen. Dazu kommt ferner, daß der Schreibhebel bei der Herzkranzarterie sich nur sehr langsam senkt, und nicht selten zeigt die Kurve erst eine leichte Erhebung, bevor sich das Gefäß verlängert. Es fehlt somit das scharfe Einsetzen der Adrenalinwirkung, wie dies bei jenen Kurven zu sehen ist, wo ein typischer vasoconstrictorischer Effekt besteht (Abb. 13). Diese Erscheinungen glaube ich am besten durch die Annahme erklären zu können, daß in diesen Versuchen das Adrenalin sowohl den vasoconstrictorischen als den vasodilatatorischen Mechanismus in Bewegung versetzt. Der primäre Adrenalineffekt ist dann das Resultat einer Konkurrenzwirkung zwischen diesen zwei antagonistischen Mechanismen, und der sekundäre resultierende Effekt beruht auf dem Überwiegen des vasodilatatorischen Mechanismus. Wir hätten somit bei den Herzkranzgefäßen vom Typus bovinus gerade umgekehrte Verhältnisse, wie wir sie für die Nierengefäße beschrieben haben, wo der vasoconstrictorische Mechanismus über den dilatatorischen überwiegt.

Unsere Ergebnisse über das Verhalten überlebender Herzkranzgefäße gegenüber Adrenalin können wir folgendermaßen zusammenfassen:

Adrenalin hat auf die isolierten Herzkranzgefäße verschiedener Tierarten einen qualitativ und quantitativ verschiedenen Einfluß. Die Gefäße vom Typus

equinus werden durch Adrenalin ausschließlich kontrahiert. Geringste Adrenalindosen können die Herzkranzgefäße vom Typus bovinus zu schwacher Kontraktion bringen, stärkere Dosen verursachen dagegen nach relativ langer Latenzzeit regelmäßig eine Dilatation. Ganz analog verhalten sich in dieser Beziehung die Gefäße vom Schwein und Schaf. Es bestehen Anzeichen, daß bei den letzteren Gefäßen durch Adrenalin sowohl der vasoconstrictorische Mechanismus erregt wird. Die Adrenalinwirkung ist unter gleichen Versuchsbedingungen beim Typus bovinus nicht nur im Verhältnis zur Gefäßlänge, sondern absolut stärker, was offenbar durch die geringere Entwicklung des contractilen Gewebes bei Herzkranzgefäßen vom Typus equinus bedingt ist.

Auf Grund dieser Ergebnisse sind wir in der Lage, die Verschiedenheiten der Resultate, welche an isolierten Herzkranzgefäßen von anderen Autoren erhalten wurden, in einen gewissen Einklang zu bringen. Langendorffs Ansicht über die Adrenalinwirkung auf isolierte Herzkranzgefäße besteht unter gewissen Einschränkungen zu Recht, eine allgemeine Anwendung kommt aber dieser Auffassung nicht zu. Denn einerseits läßt sich ein und dasselbe Gefäß vom Typus bovinus je nach der Adrenalinkonzentration sowohl kontrahieren als dilatieren und anderseits gibt es Herzkranzgefäße, wie jene vom Typus equinus, welche durch Adrenalin ausschließlich kontrahiert werden. Die Versuche von Parke[1]) verlieren durch diese Resultate ebenfalls an allgemeiner Bedeutung, wenn er bei Ochsenkranzarterien auch mit geringsten Adrenalindosen nie eine Kontraktion, sondern stets nur eine Tonuserschlaffung erzielen konnte, sie gelten eben nur für die untersuchten Gefäße. Ferner werden die von Parke geäußerten Bedenken gegen Barbours[2]) Beobachtung, daß menschliche Herzkranzarterien im Gegensatz zu den untersuchten Säugetiergefäßen auf Adrenalin sich kontrahieren, durch meine analogen Ergebnisse bei Pferdekranzarterien abgeschwächt. Auf jeden Fall kann eine Entscheidung nicht durch einen Analogieschluß, wie dies Parke tut, sondern nur durch ein einwandfreies Experiment

[1]) E. Parke, Journ. of experim. Med. **16**, 532. 1912.

[2]) Barbour, l. c. S. 273.

herbeigeführt werden. Wenn andere Autoren bisher eine differenzierende Adrenalinwirkung, wie ich sie oben an Herzkranzarterien vom Typus bovinus dargelegt habe, bei ihren Versuchen nicht konstatieren konnten, so liegt dies offenbar in dem methodischen Vorgehen. Denn Cow[1]) arbeitet z. B. durchwegs mit Dosen von 1 : 100 000 und Barbour mit solchen von 1 : 200 000, also ohne jede Abstufung des Reizes und mit Adrenalinkonzentrationen, wie wir sie kaum mehr als physiologisch bezeichnen dürfen. Meine Ergebnisse scheinen ferner geeignet, etwas Aufklärung in die Unstimmigkeiten der experimentellen Daten jener Forscher zu bringen, welche am künstlich durchströmten Herzen den Einfluß des Adrenalins auf die Herzgefäße untersuchten. Während Langendorff zu keinem befriedigenden Resultate gelangte, konstatierten Brodie und Cullis[2]) beim Kaninchen auf Adrenalin eine primäre vasoconstrictorische Phase, welche sekundär von einer vasodilatatorischen gefolgt war. Dieser Erfolg war zwar nicht regelmäßig oder nicht immer deutlich ausgesprochen. Wir finden hier eine vollkommene Übereinstimmung mit meinem Resultate beim Typus bovinus. Diese Ergebnisse von Brodie und Cullis hat Krawkow[3]) bei demselben Tiere nicht bestätigen können, da er stets nur eine Verengerung konstatierte. Dabei ist aber zu sagen, daß Krawkow, indem er das Herz durch Sauerstoffmangel zum Stillstand brachte, auch die normale Erregbarkeit der Gefäße beeinträchtigt hat. Rabe[4]) beobachtete auf Adrenalin von 1 : 2 000 000 eine starke Gefäßverengerung beim Hund, Katze und Kaninchen. Morawitz und Zahn[5]) dagegen nach intravenöser Injektion von 0,3 mg Adrenalin eine 3—4fache Zunahme des Durchflußvolumens, und Meyer[6]) bestätigt diese Angaben. Schließlich fanden Markwalder und Starling[7]) am isolierten Herzlungenkreislauf durch Messung des Durchflußvolumens nach Morawitz eine Gefäßerweiterung. Der Divergenz dieser Resultate können nach meinen Erfahrungen zwei Ursachen zugrunde liegen. Einerseits die Möglichkeit, daß Adrenalin die

[1]) D. Cow, l. c. S. 273.
[2]) Brodie und Cullis, Journ. of physiol. **43**, 313. 1911.
[3]) Krawkow, Arch. f. d. ges. Physiol. **157**, 501. 1914.
[4]) T. Rabe, Zeitschr. f. experim. Pathol. und Ther. **11**, 175. 1912.
[5]) Morawitz und Zahn, Zentralbl. f. Physiol. **26**, 465. 1912.
[6]) F. Meyer, Berl. klin. Wochenschr. **50**, 920. 1913.
[7]) Markwalder und Starling, Journ. of physiol. **47**, 275. 1913-1914.

Herzkranzarterien bei verschiedenen Tierarten verschiedensinnig beeinflußt und andererseits, daß die genannten Autoren eine differenzierende Beeinflussung durch verschiedene Adrenalinkonzentrationen nicht berücksichtigten. Die Notwendigkeit der sorgfältigen Berücksichtigung dieser Faktoren geht sicher aus meinen Ergebnissen an überlebenden Gefäßstreifen hervor. Dazu gesellen sich bei den Untersuchungen am künstlich durchströmten Herzen Schwierigkeiten von seiten der Herztätigkeit, da Adrenalin dieselbe sehr stark beeinflußt, und ferner entstehen bei der Herztätigkeit Abbauprodukte, welche auf die Gefäße einwirken können. Es handelt sich hier in erster Linie um saure Stoffwechselprodukte, welche die Gefäße zu dilatieren vermögen. Dadurch wird natürlich der eigentliche Adrenalineffekt auf die Herzkranzgefäße verwischt. Eine Untersuchung über den Einfluß des Adrenalins auf die isolierten Herzkranzgefäße, sei es mit Gefäßstreifenmethode, sei es am künstlich durchströmten Herzen, dürfte bei Berücksichtigung der von mir angegebenen Gesichtspunkte bei den Versuchsbedingungen zu besser übereinstimmenden Resultaten führen.

d) Versuche über den Einfluß des Adrenalins auf überlebende Lungengefäße.

Die Frage der Existenz der Vasomotoren der Lungengefäße ist heute noch eines der umstrittensten Probleme der Gefäßinnervation. Tigerstedt[1]) kam 1903 in seiner zusammenfassenden Abhandlung über diesen Gegenstand, speziell gestützt auf die grundlegenden Untersuchungen von Bradford und Dean, sowie von Francois-Frank zu einem positiven Ergebnis über die Existenz der Lungenvasomotoren, und zwar sollen die betreffenden gefäßverengernden Nerven für die Lungen das Rückenmark mit den oberen Brustnerven verlassen. Tigerstedt aber schreibt S. 584: „Über ihre wirkliche Bedeutung, ob sie einen Tonus besitzen, unter welchen Umständen sie normal erregt werden usw., darüber wissen wir nichts Bestimmtes. Es ist aber natürlich, daß sie, weil sie einmal existieren, in irgendeiner Weise bei der Regulation der Blutzufuhr zum linken Herzen dienen müssen.“ Dies ist das Resultat der Untersuchungen, wobei durch operative Eingriffe die normalen Verhältnisse mehr oder weniger modifiziert waren. Dieses Resultat kann als der reflektorische Ausdruck von Druckveränderungen im kleinen Kreislaufe zufolge verschiedenartiger experimenteller Einflüsse mechanischer oder nervöser Art betrachtet werden. In vorliegender Arbeit versuchen wir diesem Gegenstande auf einem

---

[1]) R. Tigerstedt, Ergebnisse der Physiologie. Asher u. Spiro. 2. Jahrg. II. Abt. S. 571. 1903.

andern Wege näher zu treten, indem wir auf Grund der schon bestehenden und hier wiedergegebenen experimentellen Daten die Reaktionsweise der Lungengefäße gegenüber chemischen Reizen in diesem Kapitel auf Adrenalin analysieren, um dann daraus evtl. einen Schluß über die Existenz von Vasomotoren der Lungengefäße zu ziehen. Bei der großen Variabilität der schon bestehenden Resultate gebe ich erst einen kurzen Überblick derselben, indem wir dabei schrittweise von den Daten an überlebenden Gefäßstreifen, dann an künstlich durchströmten Lungen, schließlich zum Verhalten der Lungengefäße gegenüber Adrenalin in vivo vordringen. Langendorff[1]) beobachtete einen vasoconstrictorischen Einfluß von Adrenalin auf überlebende Lungenarterienstreifen vom Schaf, Schwein, Kalb sowie Katze, und Meyer[2]) konstatierte dieselbe Erscheinung beim Kalb, Cow[3]) beim Ochs und Schaf. Diese Resultate gelten für extrapulmonale Arterienstücke. Barbour[4]) gelangt mit isolierten Lungenarterien vom Kaninchen zu demselben Ergebnis. Bei 7 extrapulmonalen Arterienstreifen vom Kalb beobachtete dieser Autor 4 mal eine leichte Kontraktion, 2 mal eine zweifelhafte Dilatation und in einem Falle Indifferenz gegenüber Adrenalin. Durch diese zwei zweifelhaften Versuche Barbours mit Verlängerung der Gefäßstreifen auf Adrenalin dürfte die Übereinstimmung der Resultate über die Wirkungsweise von Adrenalin auf extrapulmonale Lungenarterienstreifen nicht gestört werden. Cow schreibt nun: „The artery contained within the lung tissue showed no reaction to the drug.“ Der Autor gibt nicht an, um wieviel Versuche es sich handelt und ob es eine regelmäßige Erscheinung war.

An künstlich durchströmten Lungen in situ und bei unversehrter Innervation haben Brodie und Dixon[5]) keine nennenswerte Verengerung der Lungengefäße erzielt (beim Hund, Katze und Kaninchen), nach Reizung der zentralen und peripheren nervösen Zentren, sowie der zu den Lungen führenden Nerven: „Although distinct dilatation is the commun result which follows an injection of adrenalin into the pulmonary vessels, we have on many occassions observed it to produce, but little if any effect.“ Die notwendigen Dosen betrugen 1—5 ccm einer Adrenalinkonzentration von 1 : 20—50 000. Plumier[6]) konnte bei Hunden auf Dosen von 0,5 ccm 1 : 10 000 eine deutliche Gefäßverengerung konstatieren, sie trat nicht regelmäßig, Gefäßerweiterung aber nie ein. Wiggers[7]) erzielte bei Durchströmungsversuchen der Lungen von Katze und Hund mit Adrenalindosen von 0,02 mg und mehr eine beträchtliche Gefäßverengerung. Campell[8]) kam zu demselben Resultate bei Katze und Kaninchen mit Adre-

[1]) O. Langendorff, l. c. S. 280.
[2]) O. B. Meyer, Zeitschr. f. Biol. 48, 352—397. 1906.
[3]) D. Cow, l. c. S. 273.
[4]) Barbour, l. c. S. 273.
[5]) Brodie und Dixon, Journ. of physiol. 30, 476. 1904.
[6]) L. Plumier, Journ. de physiol. et pathol. génér. 6, 655. 1904.
[7]) J. C. Wiggers, Journ. of pharmakol. and exp. therap. 50, 344. 1909.
[8]) A. Campell, Quart. Journ. of physiol. 4, 1. 1911.

nalindosen von 1 : 60—120 000. Fühner und Starling[1]) beobachteten am isolierten Herzlungenkreislauf bei Hunden durch 0,01 mg eine Verengerung der Lungengefäße, während Baehr und Pick[2]) an der Meerschweinchenlunge mit 0,01 mg Adrenalin keinen Effekt erzielen konnten. Tribe[3]) glaubte erst, daß die von Brodie und Dixon beobachtete Erweiterung der Lungengefäße durch Adrenalin auf den Chloretonzusatz im Adrenalin von Parke Davis & Co. zurückzuführen sei. Systematische Untersuchungen mit der von Brodie und Dixon angewandten Methode der Lungendurchströmung in situ (beim Hund, Katze, Kaninchen usw.) veranlaßten den Autor, seine diesbezügliche Ansicht aufzugeben, da alle Adrenalinpräparate, Parke Davis mit und ohne Chloretonzusatz[4]), „Hemisine" von Bourough and Wellcome in Dosen von 0,002—0,00002 mg, ausschließlich eine Gefäßerweiterung, Dosen von 0,01—2 mg dagegen eine Kontraktion mit evtl. nachfolgender sekundärer Dilatation verursachten. Schafer und Lim[5]) konstatierten neuerdings bei künstlich durchströmten Lungen von Kaninchen auf Adrenalindosen von 1 ccm 1 : 21—80 000 eine Gefäßverengerung, eine Erweiterung der Lungengefäße haben die Autoren nicht beobachtet. Analoge Versuche bei Katzenlungen ergaben unregelmäßigere Resultate, meist waren noch stärkere Dosen notwendig, um überhaupt einen Effekt zu erzielen, selbst Adrenalin von 1 ccm 1 : 4000 war in einem Versuche wirkungslos. Die experimentellen Ergebnisse über den Einfluß von Adrenalin auf die Lungengefäße in vivo, welche seit Cybulski ausgeführt wurden, haben die Adrenalinwirkung auf diese Gefäße gar nicht eindeutig gelöst. Cybulski[6]), Velich[7]), Gerhardt[8]), Mellin[9]), Petitjean[10]) konstatierten wohl eine Blutdrucksteigerung durch Adrenalin nach intravenöser Injektion beim Hunde, Katze und Kaninchen in der Art. pulmonalis. Aber ihre Interpretation dieser Erscheinung geht übereinstimmend darauf hinaus, daß aus diesem Ergebnis kein Schluß für eine direkte pulmonale Vasokonstriktion gezogen werden darf, da die durch Adrenalin hervorgerufene intracardiale Blutdrucksteigerung zufolge der Erhöhung des allgemeinen Blutdruckes im großen

---

[1]) Fühner und Starling, Journ. of physiol. 47, 263. 1913, 1914.

[2]) Baehr und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 65. 1913.

[3]) E. N. Tribe, Journ. of physiol. 48, 154. 1914.

[4]) Eine Nachprüfung mit Chloreton in Ringerlösung in einer Konzentration, wie dies von Parke, Davis & Co. zur Konservierung des Adrenalins verwendet wird, ergab auf die Lungengefäße des Frosches ein absolut negatives Resultat.

[5]) Schafer und Lim, Quart. Journ. of physiol. 52, 157. 1917.

[6]) Cybulski, zit. nach Velich.

[7]) Velich, Wien. med. Blätter. 15—21. 1896, und Wien. klin. Rundschau 1898.

[8]) Gerhardt, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 44, 171. 1900.

[9]) Mellin, Skand. Archiv f. Physiol. 1904.

[10]) Petitjean, Journ. de physiol. et pathol. génér. 10, 412. 1908.

Kreislauf genügt, um die geringe im kleinen Kreislauf beobachtete Blutdrucksteigerung zu erklären. Auf ähnliche Weise erklären Anderes und Cloetta[1]) sowie Krogh[2]) die durch Adrenalin in der Pulmonalarterie verursachte Blutdrucksteigerung. Denn trotzdem das Adrenalin bei intravenöser Applikation früher zu den Pulmonalgefäßen gelangt als zu jenen des großen Blutkreislaufes, tritt die Blutdruckerhöhung in der Pulmonalis nicht früher, sondern später als im großen Kreislaufe auf. Hégér und Philippson[3]), Beresin[4]), Jackson[5]) glauben auf Grund ihrer Ergebnisse dem Adrenalin auf die Lungengefäße einen erweiternden Einfluß zuschreiben zu können. Edmunds[6]), Langlois und Desbouis[7]) beobachteten eine Zunahme des Durchflußvolumens durch die Lungengefäße nach schwachen Adrenalindosen und eine Abnahme derselben durch stärkere Adrenalindosen. Weber[8]) findet, daß Adrenalin eine primäre Verengerung der Lungengefäße verursacht, welche von einer sekundären, ebenfalls aktiven Erweiterung derselben gefolgt ist. Weber glaubt diese Ansicht am besten dadurch zu stützen, daß er dieselben Erscheinungen auch durch elektrische Reizung der zu den Lungen führenden Nerven beobachtet hat. Schafer und Lim[9]) sind der Ansicht, daß die Lungengefäße beim Kaninchen in vivo durch Adrenalin in Übereinstimmung mit den Resultaten an der künstlich durchströmten Lunge kontrahiert werden. Nach intravenöser Injektion tritt im kleinen Kreislaufe eine Gefäßverengerung auf, bevor eine solche im großen Kreislaufe zu beobachten ist. Im übrigen entsprechen ihre Resultate jenen von Weber bei der Katze mit dem Unterschied, daß Schafer und Lim die sekundäre Gefäßerweiterung nicht als einen aktiven, sondern passiven Vorgang betrachten. Denn eine Injektion von Adrenalin durch die Carotis läßt die primäre Verengerung nicht eintreten. Bei der Katze können dieselben Erscheinungen auf Adrenalin eintreten, aber meist erscheint die Blutdrucksteigerung in beiden Kreisläufen gleichzeitig nach intravenöser Injektion, welche die Autoren für kardialen Ursprungs halten.

Wenn wir diese unerwünscht mannigfaltigen Resultate über die Wirkungsweise von Adrenalin auf die Lungengefäße unter den

[1]) Cloetta und Anderes, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **76**, 125. 1914 u. **79**, 301. 1916.

[2]) A. Krogh, Skand. Archiv f. Physiol. **27**, 243. 1912.

[3]) Hégér und Philippson, Bull. de l'acad. roy. de med. de Belgique **26**, 1912.

[4]) W. J. Beresin, Arch. f. d. ges. Physiol. **158**, 219. 1914.

[5]) D. E. Jackson, Journ. of pharmacol. a. exp. therapeut. **4**, 291. 1913.

[6]) Edmunds, Amer. Journ. of physiol. **18**, 129. 1907.

[7]) Desbouis und Langlois, Journ. de physiol. et pathol. génér. **14**, 282 u. 1113. 1912.

[8]) E. Weber, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1910/11, S. 377. Suppbd., 1912, S. 383.

[9]) Schafer und Lim, Quarterly Journ. of experim. Physiol. **12**, 157. 1919.

verschiedenen experimentellen Versuchsbedingungen überblicken, so wird uns eines klar, daß es unmöglich ist, dieselben in eine Resultante zusammenzufassen. Relativ klar und einfach liegen die Verhältnisse bei den überlebenden Lungenarterienstreifen. Diese werden im extrapulmonalen Abschnitte durch Adrenalin kontrahiert, während im intrapulmonalen Abschnitte die Lungenarterien auf Adrenalin unempfindlich sein sollen. Die Ergebnisse

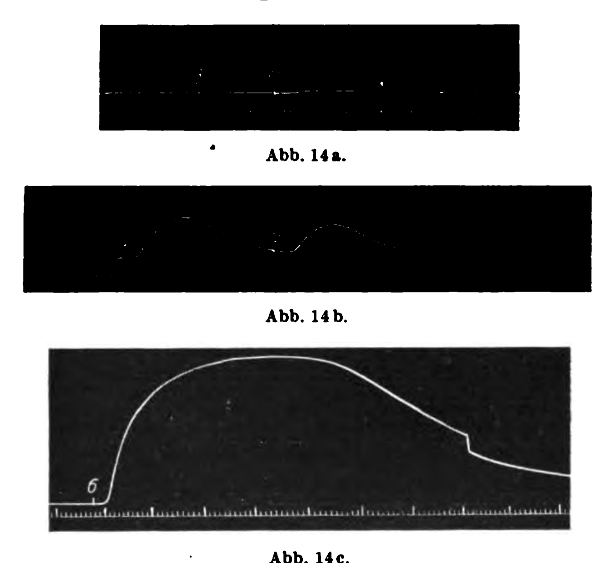


Abb. 14a.

Abb. 14b.

Abb. 14c.

Abb. 14 a, b, c. Art. pulmonalis vom extrapulmonalen Abschnitte. Belastung 10 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Die Länge des Gefäßes beträgt 16 mm, die Breite 10 mm. Bei der Marke 3′ in Abb. 14a wird Adrenalin 1 : 5 000 000 zugesetzt, da ohne Erfolg, wird die Dosis bei 3 auf 1 : 2 500 000 erhöht, worauf eine schwache und flüchtige Kontraktion eintritt. In der Abb. 14b wird bei der Marke 4 und 5 Adrenalin 1 : 1 000 000 zugesetzt, es erfolgt beidemal eine kräftige, aber flüchtige Kontraktion des Gefäßstreifens. In der Abb. 14c wird zu demselben Gefäße wie bei a und b Adrenalin 1 : 350 000 zugefügt, worauf eine sehr kräftige Verkürzung erfolgt; sie erreicht nach ca. 3 Min. das Maximum und beträgt ca. 48%. Trotzdem das Gefäß nicht mit Ringer ausgewaschen wird, erschlafft dasselbe relativ rasch nach erreichtem Maximum. Verkl. 1/2.

an künstlich durchströmten Lungen und jene in vivo sind geradezu widersprechend. Während einige Autoren eine Unerregbarkeit gegenüber Adrenalin annehmen, finden andere eine Gefäßverengerung, dritte eine Erweiterung und Tribe, Edmunds, Langlois und Desbouis und Weber glauben schließlich, daß die Lungengefäße sowohl dilatiert als kontrahiert werden.

Meine Versuche an Lungengefäßen beziehen sich auf isolierte Arterienstreifen vom extra- und intrapulmonalen Gefäßabschnitte, sowie auf die künstlich durchströmte Lunge vom Frosch.

Überlebende Streifen von extrapulmonalen Lungenarterien vom Typus bovinus und equinus, wie ich sie untersucht habe, werden durch Adrenalin bei richtiger Technik ganz regelmäßig verkürzt. Die Abb. 14 beweist ferner, daß die Erregbarkeit der Lungengefäße gegenüber Adrenalin im Vergleich zu anderen isolierten Gefäßstreifen nicht zurücksteht, sie kann als normal bezeichnet werden. In Abb. 14a u. b sehen wir ferner Kontraktionskurven, wie wir dies bei frischen Art. mesent. oder carotis kaum zu Gesicht bekommen, wohl aber schon bei den Nierengefäßen angetroffen haben. Die Gefäße verharren nicht lange im verkürzten Zustande, sondern nach erreichtem Maximum erschlaffen sie relativ rasch. Dies tritt besonders im Versuche der Abb. 14c zutage, wo auf Adrenalin 1 : 350 000 eine Verkürzung von 48% der ursprünglichen Gefäßlänge eintritt, welche aber ohne das



Abb. 15. Art. pulmonalis vom intrapulmonalen Abschnitte. Belastung 2 g. Zeitschreibung alle Minuten. Bei der Marke 1 wird Adrenalin 1 : 2 000 000 zugesetzt, es erfolgt eine schwache und flüchtige Kontraktion. Bei der Marke 2 wird Adrenalin 1 : 1 000 000 zugefügt, worauf eine etwas stärkere Verkürzung des Gefäßes erfolgt. Verkl. $^1/_2$.

Gefäß auszuwaschen, schon nach relativ kurzer Zeit auf den Ausgangstonus zurückgeht. Nach Cow und Barbour war zu erwarten, daß Arterienstreifen vom intrapulmonalen Gefäßabschnitte gegenüber Adrenalin indifferent bleiben. Die Abb. 15 gibt uns ein solches Beispiel wieder, zeigt aber, daß solche Gefäßstreifen durch Adrenalin in normalen Dosen kontrahiert werden können. Die von mir verwendeten Dosen sind 10—20 mal schwächer als jene von Cow und Barbour. Die Verkürzung war tatsächlich nie erheblich, auch nicht auf viel stärkere Adrenalindosen. Aber schon die makroskopische Betrachtung solcher Lungenarterien überzeugt von der geringen Menge contractilen Gewebes im Vergleich zu anderen Gefäßen, weshalb in den Versuchen eine entsprechend geringere Belastung angewandt wurde. Auch intrapulmonale Arterienstreifen vom Typus bovinus und equinus können durch Adrenalin mit normalen Dosen kontrahiert werden, aber die Verkürzung ist stets gering.

Der Versuch, durch abgestufte Adrenalindosen an überleben-

den Lungenarterienstreifen evtl. qualitative Unterschiede in der Reaktionsweise zu erzielen, schlug ganz fehl. Es gelang mir nie, durch Adrenalin bei diesem Vorgehen weder einen extra- noch intrapulmonalen Gefäßstreifen zu verlängern. Diese meine Ergebnisse stehen somit in Übereinstimmung mit jenen der anderen Autoren, soweit es sich um extrapulmonale Arterienstreifen handelt. Dagegen widersprechen sich meine Resultate und jene von Cow und Barbour für intrapulmonale Gefäßstreifen. Es kann sich nicht um Differenzen bei verschiedenen Tierarten

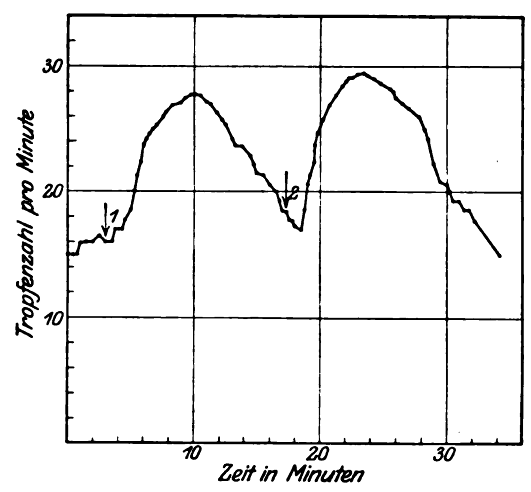


Abb. 16. Rana temp. ♂ mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke. Isolierte Durchströmung der linken Lunge. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode nach Fleisch. Bei dem Pfeile 1 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 2 000 000 injiziert. Die Tropfenzahl nimmt sehr erheblich ab, die Gefäßerweiterung dauert ca. 12 Min., bei dem Pfeile 2 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 injiziert, worauf wieder eine noch stärkere Gefäßerweiterung erfolgt. Adrenalin 1 ccm 1 : 500 000 hatte bei diesem Präparate eine Verengerung zur Folge.

handeln, da die Versuche jener Autoren ebenfalls mit Gefäßen vom Typus bovinus ausgeführt sind. Dagegen halte ich es für wahrscheinlich, daß die Unterschiede in der verschiedenen Handhabung der Methodik liegen.

Meine Resultate der Untersuchungen an künstlich durchströmten Froschlungen sind in den Abb. 16—18 wiedergegeben.

Der Gesamteindruck einer Betrachtung der Versuche in den Abb. 16—18 über den Einfluß des Adrenalins auf die Gefäße der künstlich durchströmten Froschlunge ist ein mannigfaltiger. Die genaue Analyse dieser Ergebnisse wird uns aber ohne Schwierigkeit eine Gesetzmäßigkeit herausschälen lassen. In der Abb. 16

haben wir ein Beispiel der Gefäßerweiterung der Lungengefäße durch Adrenalin vor uns, welche recht beträchtliche Werte erreichen kann, denn die Tropfenzahl erreicht nahezu das Doppelte. Diese Gefäßerweiterung durch Adrenalin kann bei demselben Präparate mit demselben Erfolge wiederholt werden, was eine Gewähr für die Richtigkeit dieses Befundes bietet. Die Erweiterung der Gefäße durch Adrenalin der künstlich durchströmten Lunge des Frosches ist somit reversibel und

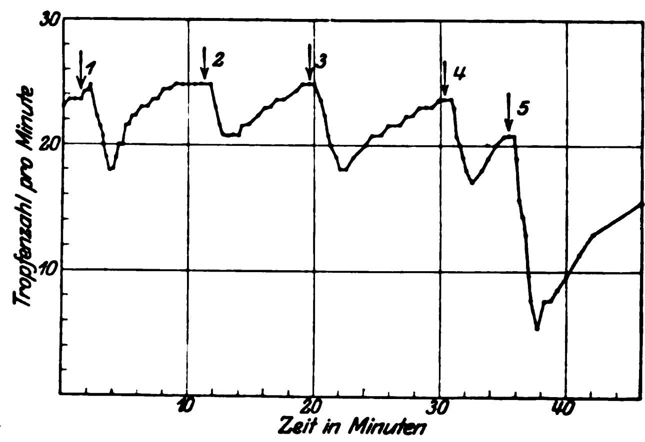


Abb. 17. Rana temp. ♂ mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke. Isolierte Durchströmung der linken Lunge. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode nach Fleisch.
Beim Pfeile 1 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 injiziert, es folgt Gefäßverengerung
" " 2 " 1 ccm " 1 : 1 000 000 " " " "
" " 3 " 1 ccm " 1 : 500 000 " " " "
" " 4 " 1 ccm " 1 : 500 000 " " " "
" " 5 " 1 ccm " 1 : 200 000 " " " "
Die Gefäßverengerung in den einzelnen Versuchen geht der Dosis ziemlich parallel.

reproduzierbar. Die Dauer der Wirkung unter den angewandten Dosen beträgt 5—10 Min. Gleichsam das Gegenstück dieses Befundes an der Froschlunge auf einen Adrenalinreiz haben wir in den Versuchen in der Abb. 17, wo wir eine eindeutige Gefäßverengerung durch Adrenalin konstatieren. Dieselbe ist ebenfalls reversibel und an demselben Gefäßpräparate mehrmals wiederholbar. Die Abnahme der Tropfenzahl geht ferner der angewandten Adrenalindosis parallel und der Abfall der Kurve ist um so steiler, je intensiver die Gefäßverengerung. Bei diesen Versuchen zeigt sich, daß die Phase der Kontraktion kürzer ist als jene der Erholung, während in den Versuchen der Gefäßerweiterung beide Schenkel fast gleich ausfallen. Die Versuche in der

Abb. 18 geben uns etwas kompliziertere Verhältnisse wieder als in den bisher besprochenen Fällen. Hier erfolgt auf eine erste Adrenalininjektion von 1 ccm 1 : 50 000 000 eine kräftige Gefäßerweiterung, die nur partiell zurückgeht. Durch Adrenalin von 1 ccm 1 : 20 000 000 werden die Gefäße dann nochmals erweitert. Eine folgende Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 in

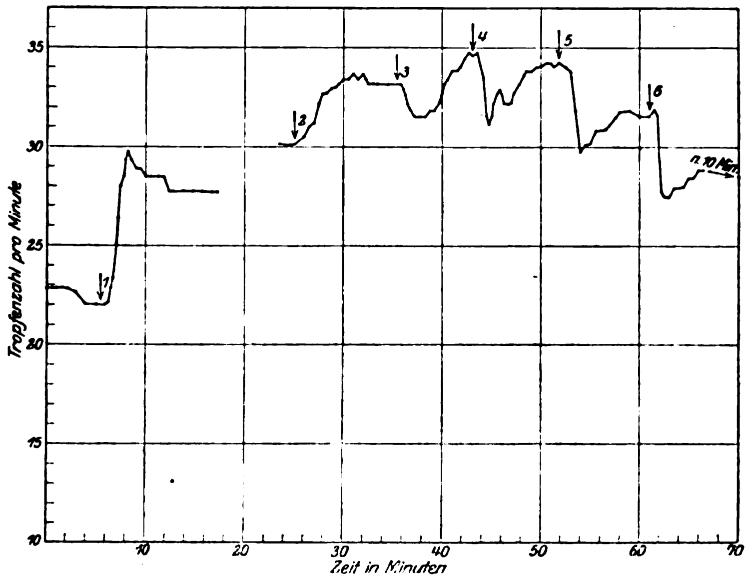


Abb. 18. Rana temp. ♂ mit zerstörtem Gehirn- und Rückenmarke. Isolierte Durchströmung der linken Lunge. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode nach Fleisch. Beim Pfeile 1 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 50 000 000 injiziert, es folgt eine starke Gefäßerweiterung, welche nicht mehr vollständig zurückgeht. Beim Pfeile 2 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 20 000 000 injiziert, es folgt wieder eine Zunahme der Tropfenzahl (Gefäßerweiterung). Vor der Erholung der Gefäße wird beim Pfeile 3 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 injiziert, worauf eine Verengerung der Gefäße erfolgt mit sekundärer Erweiterung. Beim Pfeile 4 wird 1 ccm Adrenalin 1 : 500 000 injiziert, die Folge ist eine stärkere Abnahme der Tropfenzahl wie zuvor, ohne sekundäre Erweiterung. Bei den Pfeilen 5 und 6 wird je Adrenalin 1 ccm 1 : 100 000 injiziert, es erfolgt beidemal eine erhebliche Gefäßverengerung.

diesem erweiterten Zustande der Gefäße verursacht eine primäre Verengerung, welche von einer sekundären Erweiterung gefolgt ist. Stärkere Adrenalindosen auf dasselbe Präparat lösen ausschließlich eine Gefäßkontraktion aus. Hier muß nun bemerkt werden, daß eine allmähliche Erweiterung der Lungengefäße auch ganz spontan eintreten kann, d. h. bei bloßer Durchströmung mit Ringerlösung. Die Kurve hat dann aber einen ganz anderen Charakter, sie ist durch einen allmählichen Verlauf gekennzeichnet. Diese kann daher mit dem steilen Verlauf der Adrenalinkurve

nicht verwechselt werden. Ich vermute aber in dieser Erscheinung die Ursache, weshalb die einmal durch Adrenalin erweiterten Gefäße nicht mehr zum ursprünglichen Tonus zurückkehren.

Adrenalin hat somit auf die künstlich durchströmte Froschlunge nicht immer dieselbe qualitative Wirkung, sondern löst innerhalb der Grenzen der wirksamen Dosen überhaupt, entweder eine Gefäßerweiterung oder eine Gefäßverengerung aus, welch letztere evtl. von einer sekundären Erweiterung gefolgt sein kann. Der jeweilige qualitative Ausschlag ist unter Berücksichtigung der verschiedenen Erregbarkeit der Präparate ausschließlich bedingt durch die angewandte Adrenalindosis. Die ersten wirksamen Adrenalindosen nach überschrittener Reizschwelle verursachen eine Erweiterung der überlebenden Froschlungengefäße, während stärkere Dosen bei demselben Präparate mit einer Gefäßverengerung beantwortet werden. Dies geht am besten aus der Versuchsreihe der Abb. 18 hervor. Dabei ist es aber praktisch nicht möglich, diese qualitativ verschieden wirksamen Adrenalindosen schematisch abzugrenzen. So sehen wir, daß in der Abb. 16 1 ccm Adrenalin 1 : 100 000 die Lungengefäße erweitert, 1 ccm 1 : 500 000 dieselben aber verengt. Anderseits hat in der Abb. 18 1 ccm 1 : 50 000 000 eine Erweiterung und 1 ccm 1 : 1 000 000 dagegen eine Verengerung zur Folge. Immerhin glaube ich auf Grund meiner Versuche sagen zu können, daß allgemein die Adrenalindosis von 1 ccm 1 : 1 000 000 den Wendepunkt darstellt, wo je nach der Erregbarkeit des Präparates eine Erweiterung bzw. eine Verengerung auftreten kann. Als Reizschwelle dürfte eine Adrenalindosis von 1 ccm 1 : 100 000 000 gelten. Die Erregbarkeit der künstlich durchströmten Froschlunge ist aber sehr schwankend und es kommt selbst vor, daß ein Präparat sich gegenüber Adrenalindosen von 1 ccm 1 : 50 000 bis 1 : 20 000 refraktär verhält.

Meine Ergebnisse über die Adrenalinwirkung auf die künstlich durchströmte Lunge des Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark lassen sich wie folgt zusammenfassen: Adrenalin kann die Gefäße der Froschlunge sowohl erweitern als verengern. Der qualitative Ausschlag ist jeweilig bedingt durch die Konzentration der angewandten Adrenalindosis. Allgemein lösen schwache Dosen eine Erweiterung, stärkere Dosen eine Verengerung der

Froschlungengefäße aus. Wir besitzen in diesen Ergebnissen ein weiteres Beispiel für die Tatsache, daß Adrenalin bei gewissen Gefäßen sowohl den constrictorischen als den dilatatorischen Mechanismus zu erregen vermag.

Wenn wir nun einen quantitativen Vergleich ziehen zwischen der Adrenalinwirkung bei den überlebenden Froschlungengefäßen und jenen der Hinterextremität bzw. des Splanchnicusgebietes, so können wir ohne Zweifel sagen, daß die kleinste auf die letzteren wirksame Dosis bei den ersteren ohne Erfolg ist, die Lungengefäße somit auf Adrenalin eine geringere Erregbarkeit aufweisen. Ich erwähnte auch oben, daß ich Versager bis auf Dosen von 1 ccm 1 : 50 000 antraf. Ferner sehen wir z. B. aus den Versuchen in der Abb. 18, daß die Lungengefäße selbst auf sehr starke, ja toxisch zu nennende Adrenalindosen nie jenen Grad der Verengerung erreichen, wie dies bei der Hinterextremität auf 10—100fach schwächere Dosen leicht erzielt werden kann. Zu der geringeren Erregbarkeit der Lungengefäße gegenüber Adrenalin gesellt sich außerdem eine weniger intensive Contractilität derselben. Analoge Resultate hat Tribe[1]) für Lungengefäße von Säugern beschrieben.

Meine Resultate über die Wirkungsweise des Adrenalins an isolierten Gefäßen von extra- und intrapulmonalen Arterienstreifen und diejenigen an der künstlich durchströmten Froschlunge widersprechen sich insofern, als bei den ersteren ausschließlich eine Kontraktion, bei den letzteren dagegen je nach der Adrenalindosis eine Dilatation bzw. eine Kontraktion nachweisbar ist. Die Ursache dieser Divergenz mag darin liegen, daß bei der Gefäßstreifenmethode nur relativ große Gefäße zur Untersuchung gelangen, wir somit das Verhalten der Arteriolen und der Capillaren nicht berücksichtigen. Ferner könnte ein verschiedenes Verhalten bei verschiedenen Tierarten vorliegen, oder selbst der dilatatorische Mechanismus an isolierten Gefäßen sich schlechter konservieren lassen, wie das für die Nierenarterien der Fall ist. Die Ergebnisse an der Froschlunge sprechen aber in dem Sinne, daß der Widerspruch der Resultate, wie wir sie im bibliographischen Überblick über die Wirkungsweise des Adrenalins an künstlich durchströmten Lungen und im Experiment in vivo kennen gelernt haben, ein

[1]) Tribe, l. c. S. 289.

scheinbarer ist. Denn zufolge der zweifachen, von der Dosis abhängigen Beeinflußbarkeit der Lungengefäße, sowie der geringeren Erregbarkeit gegenüber Adrenalin überhaupt, ist je nach den besonderen Umständen der Nachweis einer Dilatation bzw. Kontraktion oder einer Indifferenz ermöglicht. Ohne auf Grund dieser Daten an der Froschlunge direkt per analogiam auf die Verhältnisse in vivo und künstlich durchströmter Organe anderer Tierarten schließen zu wollen, so dürften bei Berücksichtigung dieser wesentlichen Punkte über das Verhalten der Lungengefäße gegenüber Adrenalin die experimentellen Ergebnisse auch bei jenen Versuchsbedingungen einheitlicher ausfallen, als dies bisher der Fall war. Bei dem Experiment in vivo sind allerdings noch andere Faktoren zu berücksichtigen. Einmal können blutdruckregulierende Mechanismen mechanischer und nervöser Art die ursprüngliche Adrenalinwirkung auf die Lungengefäße beeinflussen. Ferner verursachen die durch operative Eingriffe veränderten Lebensbedingungen der Lungen, welche eine solche Untersuchung in vivo notwendigerweise erfordert, Schwierigkeiten, deren Bedeutung auch daraus erhellt, daß die Meinungsverschiedenheiten über die Wirkungsweise des Adrenalins auf die Lungengefäße gerade in neuester Zeit (Weber, Cloetta u. a.) dadurch bedingt zu sein scheinen. Über die Frage der Vasomotoren der Lungengefäße wird in der allgemeinen Diskussion der experimentellen Daten die Rede sein.

Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungsweise einiger chemischer, vasotonisierender Substanzen organischer Natur auf überlebende Gefäße. III.

Von

E. Rothlin.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Zürich.)

(Eingegangen am 29. Juni 1920.)

Mit 18 Abbildungen im Text.

In der vorhergehenden Mitteilung sind die Resultate über die vasotonisierenden Eigenschaften des Oxalat- bzw. Normalblutes, des Blutserums und des Adrenalins mitgeteilt. Unsere diesbezügliche Analyse soll im folgenden durch eine analoge Untersuchung mit β-Imidazolyläthylamin (Histamin), Pituglandol und Lienin (Milzextrakt) vervollständigt werden. Im Anschluß daran folgt eine Diskussion der experimentellen Daten aller hier untersuchten vasotonisierenden Substanzen.

4. Versuche mit β-Imidazolyläthylamin auf überlebende Gefäße verschiedener Organgebiete und verschiedener Tierarten.

β-Imidazolyläthylamin, auch Histamin genannt, wurde von Ackermann[1]) durch bakteriellen Abbau aus dem Histidin gewonnen, Berthelot und Bertrand[2]) sowie gleichzeitig Mellanby und Tworth[3]) konnten aus dem Darminhalt Bakterien gewinnen, welche Histidin in das Histamin verwandeln. Kutscher[4]) isolierte dann aus dem Mutterkorn eine Base, von deren physiologischen Wirkungen Ackermann und Kutscher[5]) schrieben: „Nach diesen Versuchen scheint die Secalebase ein Körper zu sein, der chemisch dem Imidazolyläthylamin nahesteht, sich in seiner

---

[1]) Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chemie **64**, 504. 1910.

[2]) Berthelot und Bertrand, Compt. rend. de la soc. de biol. **154**, 643. 1912.

[3]) Mellanby und Tworth, Amer. journ. of physiol. **45**, 53. 1912.

[4]) Kutscher, Zentralbl. f. Physiol. **24**, 163. 1910.

[5]) Ackermann und Kutscher, Zeitschr. f. Biol. **54**, 387. 1910.

physiologischen Wirkung aber wesentlich davon unterscheidet." Barger und Dale[1]) gelang es aber, diese Secalebase als Histamin zu identifizieren. Außerdem konnten Barger und Dale[2]) dieselbe Base im Extrakte der Darmschleimhaut nachweisen und ebenso im Secretin von Bayliss und Starling. Barger und Dale nehmen ferner an, daß im „Vasodilatin" von Popielski[3]), Popielski und Panek[4]), welches ebenfalls aus der Schleimhaut des Darmtraktus gewonnen wird, das Histamin eine aktive Komponente darstellt. Die Wirkungen des Histamin sind sowohl vom physiologischen als pathologischen Standpunkte äußerst interessant und dies um so mehr, als auf Grund der obigen Mitteilungen die Anzeichen sich mehren, daß diese Base im Stoffwechsel des Organismus vorkommt und evtl. gewisse Funktionen ausübt. Im Rahmen vorliegender Arbeit soll uns die vasotonisierende Eigenschaft dieser Base beschäftigen. Die ersten systematischen Untersuchungen über die vasotonisierende Wirkung des Histamins stammen von Dale und Laidlaw[5]). Nach diesen Autoren hat Histamin auf die Gefäße vom Körper isolierter, künstlich durchströmter Organe beim Hund und Katze stets einen vasoconstrictorischen Effekt zur Folge; so auf die Gefäße der Extremitäten, Lunge und Niere. Damit stimmen die Ergebnisse an isolierten Gefäßstreifen von Barbour[6]) überein; die Gefäße der Extremitäten und des Herzens werden durch Histamin kontrahiert. Ebenso fand Krawkow[7]) am isoliert durchströmten durch O_2-Mangel zum Stillstand gebrachten Kaninchenherzen, daß Histamin in Dosen von 1 : 500 000 bis 5 000 000 eine starke Verengerung der Herzkranzarterie auslöst. Rabe[8]) konstatierte dagegen in 2 Fällen Erhöhung, in zwei anderen Fällen Abnahme der Durchflußmenge durch das künstlich durchströmte Herz des Hundes nach Applikation von Histamin. Baehr und Pick[9]) konnten bei der überlebenden Meerschweinchenlunge mit Histamindosen von 0,001 g überhaupt keine vasotonisierende Wirkung beobachten. Handowsky und Pick[10]) fanden, daß 0,001 g Histamin bei der Froschhinterextremität nach Läwen-Trendelenburg primär keine nennenswerte Gefäßerweiterung verursacht. Wird aber der Tonus des Froschgefäßpräparates durch eine vasoconstrictorisch wirksame Substanz (Adrenalin oder Blutserum) erhöht, „dann läßt sich sofort die Wirkung der Base, und zwar als mächtige Dilatation nachweisen". Adrenalin und Histamin haben für diese Autoren eine antagoni-

---

[1]) Barger und Dale, Zentralbl. f. Physiol. **24**, 885. 1910.

[2]) Barger und Dale, Amer. journ. of physiol. **41**, 499. 1911.

[3]) Popielski, Arch. f. d. ges. Physiol. **128**, 191. 1909.

[4]) Popielski und Panek, Zentralbl. f. Physiol. **23**, 137. 1909.

[5]) Dale und Laidlaw, Amer. journ. of physiol. **41**, 318. 1910—11 und **43**, 182. 1911—12.

[6]) Barbour, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **68**, 41. 1912.

[7]) Krawkow, Arch. f. d. ges. Physiol. **157**, 501. 1914.

[8]) Rabe, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Ther. **11**, 175. 1912.

[9]) Baehr und Pick, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **74**, 65. 1913.

[10]) Handowsky und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **71**, 89. 1913.

stische vasotonisierende Wirkung. Dale und Laidlaw haben ferner zuerst die Wirkung des Histamins auf den Blutdruck in vivo untersucht. Dabei ergab sich eine frappante Diskrepanz gegenüber den Versuchen an überlebenden Gefäßen derselben Tiere. Histamin verursacht nach diesen Autoren beim Hund und Katze, Affen und Huhn nach intravenöser Injektion eine Blutdrucksenkung im großen Blutkreislauf. Beim Meerschweinchen und Kaninchen tritt unter denselben Versuchsbedingungen eine Blutdrucksenkung ein. Die Lungengefäße machen dabei eine Ausnahme, denn: „the pulmonary arteries on the other hand constrict in repons to the drug whether in the body or isoslated". Da Dale und Laidlaw auch nach Exstirpation des zugehörigen sympathischen Neurons die Gefäßerweiterung in der betreffenden Vorderextremität bei der Katze nach wie vor beobachteten, erklären die Autoren: „we must conclud therefore, that the vasodilator effect of β-iminazolylethylamin in the dog, cat and some other animals is a primary action, periphereal in origine, independent of the integrity of the sympathetic neurones. Its failure to occur in the isolated perfused organe is still inexplained." Cloetta und Anderes[1]) haben diese Diskrepanz der Wirkungsweise des Histamins auf den Blutdruck des großen und kleinen Kreislaufes bei der Katze bestätigen können, während Weber[2]) durch diese Base eine Erweiterung der Lungengefäße konstatierte. Weber glaubt, daß die Blutdruckerhöhung im kleinen Kreislauf durch Histamin von Cloetta und Anderes und damit notwendigerweise auch jene von Dale und Laidlaw durch die constrictorische Wirkung des Histamins auf die Bronchialmuskulatur zurückzuführen sei.

Meine Untersuchungen über die vasotonisierende Wirkung des Histamins sind an überlebenden Gefäßen mit „Imido" La Roche[3]) ausgeführt, und zwar an isolierten Gefäßstreifen verschiedener Gefäßgebiete von Warmblütern, am isoliert durchströmten Kaninchenohr und ferner an verschiedenen Gefäßgebieten beim Frosch (das Gesamtgefäßsystem, Splanchnicusgefäße, die Gefäße der Extremitäten und der Lunge).

a) Versuche an isolierten Arterienstreifen.

Diese Beispiele (Abb. 1—3, S. 302) an isolierten Arterienstreifen zeigen, daß Histamin auf diese Testobjekte stets einen vasoconstrictorischen Einfluß ausübt, gleichgültig von welchem Gefäßgebiete die Arterienstreifen stammen. Untersucht habe ich folgende Gefäße: Art. carotis, femoralis, mesenterica, gastrica,

---

[1]) Cloetta und Anderes, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **76**, 125. 1914.

[2]) Weber, Arch. f. Physiol. 1910/12. 377. u. 383. Supplb. **79**, 301. 1916.

[3]) Der Firma Hoffmann La Roche verdanke ich die freundliche Überlassung des Präparates.

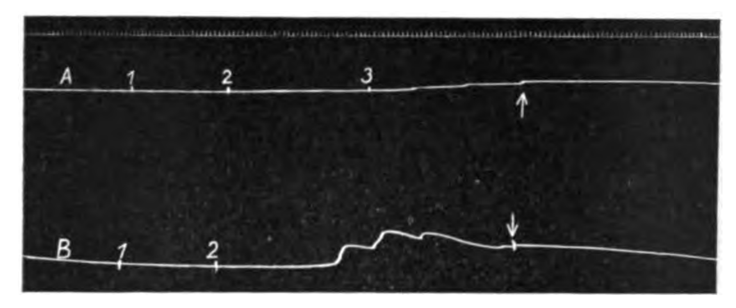


Abb. 1 a.

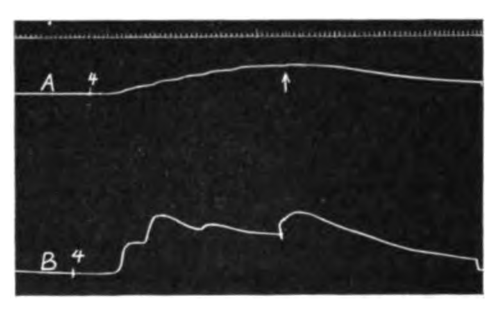


Abb. 1 b.

Abb. 1a und b. *A* distaler, *B* proximaler Streifen einer Nierenarterie von Kuh. Belastung je 20 g. Zeitmarkierung alle 6 Sek. Bei der Marke 1 wird zu beiden Gefäßen Histamin 1 : 25 000 000, bei der Marke 2 Histamin 1 : 10 000 000, bei Gefäß *B* tritt nach langer Latenzzeit eine Verkürzung mit rhythmischen Schwankungen ein, da bei Gefäß *A* kein Erfolg eintritt, wird die Konzentration auf 1 : 5 000 000 erhöht, worauf eine ganz unerhebliche Verkürzung auftritt, auch hier wird der Tonus rhythmisch erhöht. In der Abb. b wird zu beiden Gefäßen bei der Marke 4 Histamin 1 : 1 000 000 zugesetzt, worauf in beiden Gefäßen eine Kontraktion mit rhythmischen Schwankungen erfolgt. Verkl. $^1/_3$.



Abb. 2. Art. lienalis von Kuh. *A* distaler, *B* proximaler Streifen. Belastung je 20 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Bei der Marke 1 wird Histamin 1 : 1 000 000 zugesetzt. Es tritt bei beiden Gefäßen eine Verkürzung ein. Verkl. $^1/_3$.

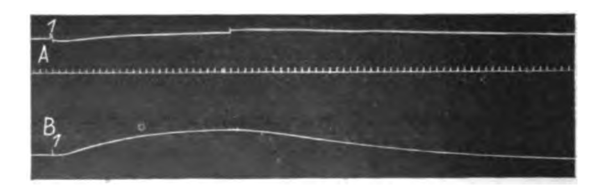


Abb. 3. *B* Art. coronaris cordis von Kuh. *A* Art. coronaris cordis von Pferd. Belastung der Gefäße mit je 25 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Histamin 1 : 1 000 000 bringt beide Gefäße zur Verkürzung. Verkl. $^1/_3$.

splenica, renalis, pulmonalis und coronaris cordis. Die Resultate für die Gefäße von Typus bovinus, equinus und vom Schwein stimmen ganz überein. Die wirksame Dosis liegt ungefähr bei derselben Konzentration wie für Adrenalin. Eine qualitativ verschiedene Wirkung durch Abstufung der Konzentration, wie dies für Adrenalin mit positivem Erfolge an der Art. renalis z. B. durchgeführt wurde, ergab ein negatives Resultat, stets löste jeder überschwellige Reiz eine Verkürzung des Gefäßstreifens aus. Gefäßerweiterung wurde nie erzielt. Das Histamin wirkt auch ebenso regelmäßig auf isolierte Gefäßstreifen wie das Adrenalin, Versager habe ich keine beobachtet.

b) Versuche am isoliert durchströmten Kaninchenohr.

Der Versuch in der Abb. 4 ergibt, daß Histamin auf die Gefäße des isolierten, künstlich durchströmten Kaninchenohres in sehr verdünnter Konzentration eine kräftige vasoconstric-

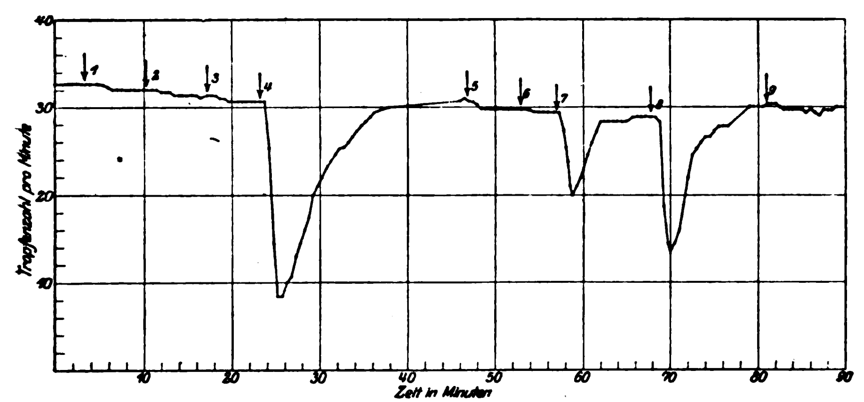


Abb. 4. Versuch am isoliert durchströmten Kaninchenohr. Registrierung der Durchflußmenge, mit der Überlaufmethode von Fleisch. Versuchstemperatur 17°.
Pfeil 1 Injektion von 1 ccm Ringer zur Kontrolle.
Pfeil 2 Injektion von 1 ccm Ringer zur Kontrolle.
Pfeil 3 Injektion von 1 ccm Ringer zur Kontrolle.
Pfeil 4 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 000, starke Gefäßkontraktion.
Pfeil 5 und 6 Injektion von 1 ccm Ringer zur Kontrolle.
Pfeil 7 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 10 000 000 000, Gefäßkontraktion.
Pfeil 8 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 000, Gefäßkontraktion.
Pfeil 9 Injektion von 1 ccm Ringer zur Kontrolle.

torische Wirkung ausübt. Wie aus diesem Versuch hervorgeht, ist die Wirksamkeit des Histamins verglichen mit jener des Adrenalins bei demselben Präparate etwas größer. Diese Beeinflussung der Gefäße des Kaninchenohres durch Histamin kann regelmäßig erzielt werden, es bestehen allerdings Unterschiede

der Erregbarkeit der einzelnen Gefäßpräparate. Dabei zeigte sich stets, daß, wenn eine geringe Erregbarkeit gegenüber Histamin bestand, dieselbe auch für Adrenalin herabgesetzt war. Mit β-Imidazolyläthylamin konnte bei überlebenden Gefäßen des Kaninchenohres nie eine Gefäßerweiterung beobachtet werden.

c) Versuche an isoliert durchströmten Gefäßgebieten des Frosches.

Die Versuche der Abb. 5—9 sind einige typische Beispiele für die Wirkungsweise des Histamins auf die überlebenden Gefäßgebiete beim Frosche. Aus dem Versuche der Abb. 5 können wir schließen, daß diese Base einen vasoconstrictorischen Effekt auf die überlebenden Gefäße der Froschhinterextremität hat. Diese Wirkungsweise des Histamins auf dieses Gefäßpräparat dürfte in der Mehrzahl der Fälle zutreffen, läßt sich aber entschieden nicht mit jener Regelmäßigkeit auslösen wie bei den isolierten Gefäßstreifen und am Kaninchenohr. Meist sind Dosen von 1 : 1—40 000 000 vasoconstrictorisch wirksam, aber nicht selten sind selbst Dosen von 1 : 50—100 000 von nur ganz geringem oder sogar ohne jeden vasotonisierenden Einfluß. Die Gefäßkontraktion bei der Froschhinterextremität durch Histamin ist nicht nur inkonstant, sondern verglichen mit der Wirksamkeit des Adrenalins ist sie weniger intensiv. Es kann also eine Besonderheit der Histaminwirkung auf die Froschhinterextremität betrachtet werden, daß ein Präparat entweder schon auf geringe Dosen wie 1 : 10—20 000 000 anspricht, oder dann selbst auf 10—100fache Dosen nicht reagiert. Stärkere Dosen als 1 : 100 000 habe ich nicht untersucht, da ich solche Dosen außerhalb der physiologischen Grenze erachte. Wenn ein solches Gefäßpräparat auf eine Histamindosis eine Gefäßverengerung aufweist, so kann dieselbe mit derselben Dosis wiederholt werden (Abb. 5), dieser zweite Effekt ist dem ersten gewöhnlich analog.

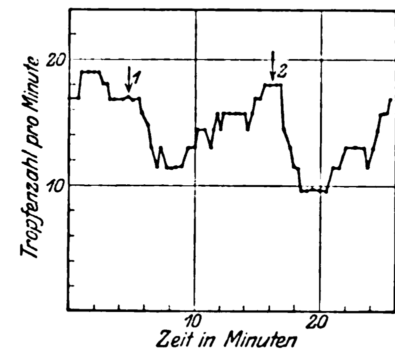


Abb. 5. Isolierte Durchströmung der rechten Hinterextremität des Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode nach Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 2 000 000, es folgt eine Verengerung der Gefäße mit rhythmischen Erscheinungen.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 2 000 000, der Effekt ist derselbe.

Nie konnte ich mit Histamin bei der Froschhinterextremität eine Gefäßerweiterung erzielen. Meine Resultate über die Wirkung des Histamins stehen somit in Widerspruch mit jenen von Handowsky und Pick[1]), welche durch Histamin nur eine Tonuserschlaffung nachweisen konnten, und

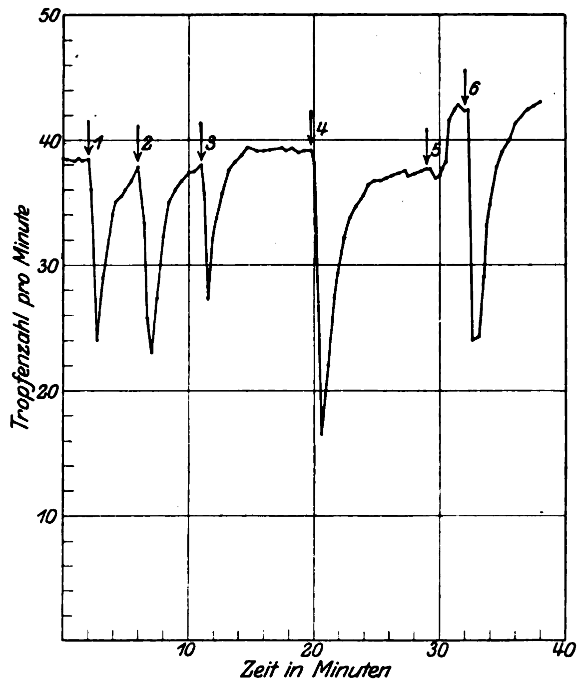


Abb. 6. Künstliche Durchströmung des ganzen Gefäßsystems eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke, von der linken Aorta aus. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufsmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1occm Histamin 1 : 400 000, Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 400 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Lienin 1 : 200, Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 1 000 000, Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 5 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßerweiterung.
Beim Pfeile 6 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 1 000 000 Gefäßkontraktion.

zwar besonders unter Versuchsbedingungen, wo der Gefäßtonus vorerst durch Adrenalin oder Blutserum erhöht worden war. Diesbezügliche Versuche ergaben mir nicht nur bei der Froschextremität, sondern auch bei der Durchströmung des ganzen Gefäßsystems von der Aorta aus stets dasselbe Resultat, welches in dem vasoconstrictorischen Effekt des Histamins besteht. In der

[1]) Handowsky und Pick, l. c. S. 300.

Abb. 7 ist ein solches Beispiel wiedergegeben. Diese Diskrepanz ist mir unerklärlich, es müßte denn sein, daß dieselbe durch die von Handowsky und Pick verwendeten sehr hohen Dosen verschuldet sind, denn die Autoren applizierten regelmäßig 1 mg, eine Dosis, welche nach Berthelot und Bertrand[1]) für 1 kg Kaninchen toxisch ist.

Der Einfluß des Histamins auf das ganze Gefäßsystem des Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke, mit Ausnahme der Lungengefäße, ist in den Abb. 6 u. 7 wiedergegeben.

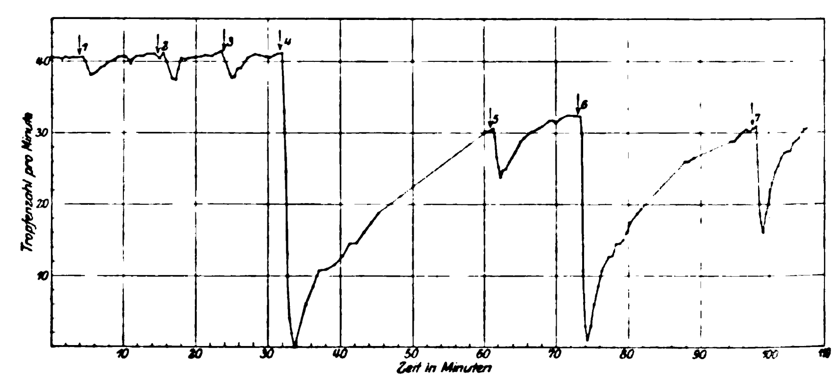


Abb. 7. Künstliche Durchströmung des ganzen Gefäßsystems eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke, von der linken Aorta aus. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 500 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 5 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 6 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 10 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 7 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 1000 Gefäßverengerung.

Die Versuche zeigen, daß Histamin unter diesen Bedingungen in Konzentrationen von 1 : 400 000 bis 1 : 10 000 000 eine erhebliche Gefäßverengerung auslösen kann, welche mit demselben Erfolge beim gleichen Präparate reproduzierbar ist. Auch unter diesen Durchströmungsverhältnissen besteht keine Konstanz der Histaminwirkung, es treten auch hier innerhalb Dosen von 1 : 50 000—10 000 000 absolute Versager auf. Auf ganz geringe Dosen kann eine Gefäßerweiterung durch Histamin auftreten, wie dies im Versuch der Abb. 6 (bei der 5. Injektion, Histamin 1 : 20 000 000) der Fall ist. Ein solcher vasodilatierender

---

[1]) Berthelot und Bertrand, Compt. rend. de la soc. de biol. **155**, 360. 1912.

Effekt durch Histamin läßt sich am ehesten zu Beginn des Experimentes auslösen, aber ohne Regelmäßigkeit. Eine solche Gefäßerweiterung darf nur dann als eine Folge der Histaminwirkung betrachtet werden, wenn sie rasch eintritt, reversibel und reproduzierbar an demselben Präparate ist. Denn eine allmähliche Erweiterung der Gefäße in der ersten halben Stunde nach Beginn des Experimentes kommt auch bei bloßer Durchströmung mit Ringerlösung vor. Eine Gefäßerweiterung konnte ich ferner bei isolierter Durchströmung der Splanchnicus-

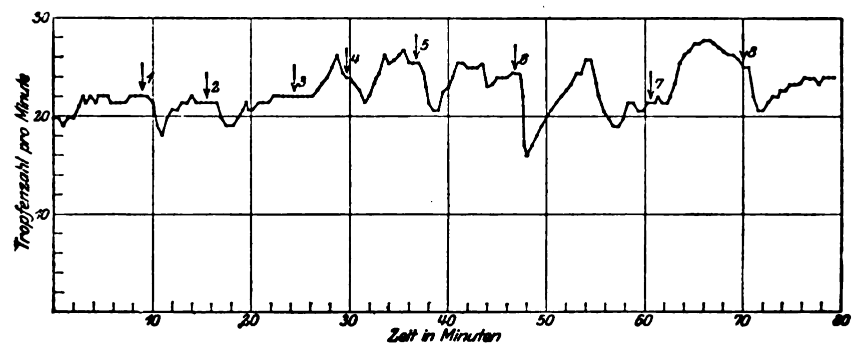


Abb. 8. Isolierte Durchströmung der rechten Lunge eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 100 000 000 Gefäßdilatation.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 1 000 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 5 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 1 000 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 6 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 500 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 7 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 Gefäßerweiterung.
Beim Pfeile 8 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 500 000 Gefäßkontraktion.

gefäße des Frosches beobachten, aber auch hier tritt sie nur sehr selten ein und ebenfalls nur auf ganz geringe Histamindosen. Diese Erscheinung ist nicht im Einklang mit den Resultaten von Dale und Laidlaw[1]), welche bei überlebenden Gefäßen stets nur einen vasoconstrictorischen Effekt erzielten, auch bei Hund und Katze, wo in vivo durch Histamin der Blutdruck erniedrigt wird. Es scheint aber, daß beim Frosch unter gewissen Bedingungen und bei gewissen Gefäßgebieten durch Histamin der dilatatorische Mechanismus auch im überlebenden Zustande erregt werden kann.

Die Beeinflussung der Lungengefäße des Frosches durch Histamin ist in den Abb. 8 u. 9 dargestellt. Die Versuchsserie

[1]) Dale und Laidlaw, l. c. S. 300.

in der Abb. 8 zeigt, daß Histamin die überlebenden Lungengefäße zu kontrahieren vermag, in Dosen bis zu 1 : 10 000 000. Stärkere Histamindosen haben einen stärkeren vasoconstrictorischen Effekt. Diese Wirkung kann mehrere Male mit demselben Erfolge beim gleichen Präparate wiederholt werden. In derselben Versuchsreihe zeigt sich ferner, daß ganz geringe Histamindosen (3. Injektion) die Lungengefäße dilatieren können. Ich bemerke aber, daß auch hier eine solche Wirkung nicht regelmäßig

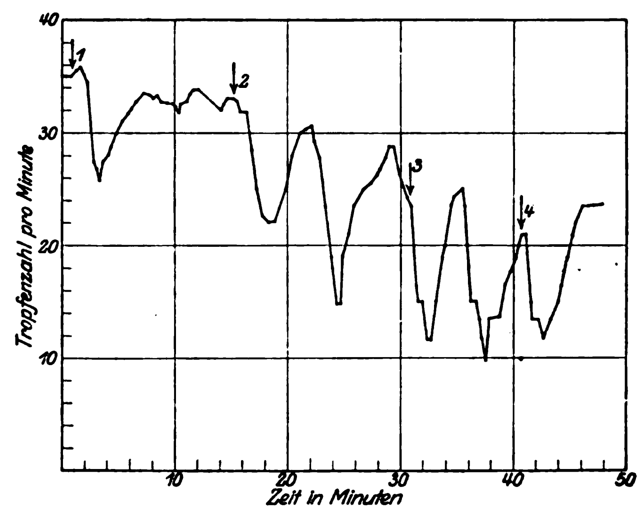


Abb. 9. Isolierte Durchströmung der linken Lunge eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 10 000 000 Gefäßkontraktion.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 2 000 000 Gefäßkontraktion mit Rhythmus.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 500 000 Gefäßkontraktion mit Rhythmus.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 2 000 000 Gefäßkontraktion.

auslösbar ist. Die Versuchsreihe der Abb. 9 bringt wieder den vasoconstrictorischen Einfluß des Histamins auf die Lungengefäße des Frosches zur Anschauung. Dabei tritt in sehr markanter Weise die Auslösung von rhythmischer Tätigkeit auf. Solche erhebliche rhythmische Schwankungen habe ich bei bloßer Durchströmung mit Ringerlösung nie beobachtet. In der Abb. 8 sind zu Beginn des Versuches solche rhythmische Schwankungen registriert, wie sie bei Ringerdurchströmung nicht selten auftreten. Die Auslösung von rhythmischen Schwankungen wie im Versuch der Abb. 9 ist aber nicht eine regelmäßige Erscheinung

der Histaminwirkung. Histamin ist ferner auch auf die Lungengefäße bei gewissen Präparaten absolut unwirksam, wenigstens innerhalb der von mir untersuchten Dosen.

Wir können sagen, daß Histamin in der Regel die isoliert durchströmten Lungengefäße des Frosches kontrahiert, die wirksame Grenzdosis liegt bei 0,000001 bis 0,0000001 g, schwächere Dosen können wahrscheinlich eine Gefäßerweiterung verursachen.

Diese Ergebnisse decken sich insofern mit jenen von Dale und Laidlaw bei überlebenden Gefäßen und in vivo, sowie mit jenen von Cloetta und Anderes in vivo, als dieselben einen vasoconstrictorischen Effekt auf die Lungengefäße annehmen. Die beobachtete Gefäßerweiterung deckt sich mit dem Befund von Weber in vivo nur insoweit, als ich eine Erschlaffung des Tonus der Lungengefäße unter gewissen Umständen möglich erachte. Weber glaubt aber, daß Histamin die Lungengefäße nicht kontrahiert. Die weitere Forschung wird zeigen können, ob sich diese Verschiedenheiten der Resultate evtl. durch einen qualitativ verschiedenen Einfluß der angewandten Konzentration erklären lassen, wie dies für die überlebenden Gefäße des Frosches der Fall zu sein scheint.

Die Schlußbetrachtung über die Wirkungsweise des Histamins auf die untersuchten überlebenden Gefäße führt uns zu folgenden Ergebnissen: Es besteht ein qualitativer Unterschied in der Beeinflussung überlebender Gefäße durch Histamin. Die isolierten Arterienstreifen der verschiedensten Gefäßgebiete und verschiedener Tierarten, sowie die Gefäße des **Kaninchenohres** werden mit jeder Regelmäßigkeit durch jeden überschwelligen Reiz kontrahiert, und zwar in Konzentrationen, wie sie für dieselben Gefäßpräparate auch für Adrenalin bestehen. Alle untersuchten Gefäßgebiete des Frosches, das Gesamtgefäßsystem bei Durchströmung von der Aorta aus, die Hinterextremität, die Splanchnicusgefäße und die Lungengefäße weisen eine Inkonstanz der Erregbarkeit für Histamin auf, was für Adrenalin außer den Lungengefäßen keineswegs zutrifft. Bei allen diesen Präparaten treten absolute Versager innerhalb der untersuchten Konzentrationen auf. Die Froschhinterextremität wird, wenn überhaupt, durch Histamin nur

vasoconstrictorisch beeinflußt. Das Gesamtgefäßsystem, die Splanchnicusgefäße sowie die Lungengefäße dagegen können durch die ersten überschwelligen Reize wahrscheinlich dilatiert, durch stärkere Dosen in der Regel kontrahiert werden. Die wirksamen Dosen für Histamin bei diesen Gefäßpräparaten, Hinterextremität, Splanchnicusgebiet uud Gesamtgefäßsystem stehen im Vergleich zu jenen des Adrenalins 10—100fach zurück. Bei den Lungengefäßen dagegen sind die wirksamen Histamindosen jenen für Adrenalin ungefähr gleich. Es wird weiterer Untersuchungen bedürfen, um die Ursachen der Inkonstanz sowie der evtl. Möglichkeit einer doppelsinnigen Beeinflussung gewisser Gefäße durch Histamin zu erforschen. Auf jeden Fall scheint durch meine Resultate beim Frosche eine Brücke geschlagen zu sein für die von Dale und Laidlaw beobachtete Diskrepanz der Histaminwirkung in vivo und am überlebenden Organ.

5. Untersuchungen über den Einfluß von Pituglandol auf überlebende Gefäße.

Seitdem Oliver und Schäfer im Jahre 1894 die blutdrucksteigernde Wirkung des Hypophysenextraktes nach intravenöser Injektion nachgewiesen haben, ist die Untersuchung der vasotonisierenden Eigenschaft der wirksamen Bestandteile der Hypophyse oft Gegenstand experimenteller Forschung gewesen. Wir verfolgen in dieser Arbeit speziell den Einfluß des Hypophysenextraktes auf überlebende Gefäße. Von Pal[1]), de Bonis und Susanna[2]), Siccardi und Loredan[3]) und Cow[4]) wurde der Einfluß des Hypophysenextraktes auf überlebende Gefäßstreifen verschiedener Gefäßgebiete und verschiedener Tierarten untersucht. Pal konstatierte eine Verkürzung unter dem Einfluß von Hypophysenextrakt bei der Art. carotis. mesenterica, femoralis, coronaris cordis, sowie der Art. renalis im proximalen Abschnitte. Arterienstreifen des distalen Abschnittes der Nierenarterien wurden dagegen durch Hypophysin dilatiert. De Bonis und Susanna konnten bei Art. carotis, cruralis, pulmonalis und coronaris cordis durch Hypophysenextrakt nur einen vasoconstrictorischen Effekt erzielen. Siccardi und Loredan haben an Art. carotis, coronaris cordis und gastrica ebenfalls eine manifeste Kontraktion durch Hypophysenextrakt beob-

[1]) Pal, Wien. med. Wochenschr. 1909 und Zentralbl. f. Physiol. **23**, 253. 1909.

[2]) De Bonis und Susanna, Zentralbl. f. Physiol. **23**, 159. 1919.

[3]) Siccardi und Loredan, Zeitschr. f. allgem. Physiol. **15**, 85. 1913.

[4]) D. Cow, Journ. of physiol. **42**, 125. 1911.

achtet. Cow findet einen ausschließlich vasoconstrictorischen Einfluß durch Hypophysenextrakt bei den Art. carotis und facialis, bald kontrahiert, bald dilatiert wird die Art. coronaris cordis; die Art. gastrica, hepatica, splenica und renalis werden nur dilatatorisch beeinflußt und zwar um so stärker, je distaler der untersuchte Arterienstreifen vom Ursprung des Gefäßes gewählt wird. Cows Gefäße stammen vom Schaf, die verwendeten Dosen betragen 1 : 50—1 : 500. Herring[1]) hat den Einfluß des 1 proz. Extraktes aus dem Infundibularteile der Hypophyse beim künstlich durchströmten Frosche untersucht und konstatierte eine Gefäßverengerung. Am Laewen-Trendelenburgschen Präparate hat Kepinow[2]) einen vasoconstrictorischen Effekt durch Hypophysenextrakt erzielt. Und schließlich fand Rischbieter[3]) am isoliert durchströmten Kaninchenohr, daß Hypophysenextrakt diese Gefäße kontrahiert. Aus dieser bibliographischen Übersicht sehen wir, daß der Hypophysenextrakt keine einheitliche Wirkung auf die untersuchten überlebenden Gefäße ausübt.

Meine eigenen Untersuchungen sind mit Pituglandol[4]) La Roche an isolierten Gefäßstreifen, am künstlich durchströmten Kaninchenohr sowie an verschiedenen Gefäßgebieten des Frosches ausgeführt.

a) Versuche an isolierten Gefäßstreifen.

Die Versuche in den Abb. 10 u. 11 stellen typische Beispiele für die Wirkungsweise des Pituglandols auf isolierte Arterienstreifen dar. In keinem aller untersuchten Gefäßstreifen habe ich bei einer überhaupt wirksamen Pituglandoldosis eine Verlängerung konstatieren können, dagegen konnten folgende Gefäße zur Verkürzung gebracht werden: Art. carotis, mesenterica, splenica, gastrica, renalis, pulmonalis und coronaris cordis. Die wirksame Dosis lag zwischen 1 : 50 bis 1 : 1000 Pituglandol La Roche. Der Erfolg trat bei den genannten Gefäßen nicht regelmäßig ein, selbst gegenüber einer Dosis von 1 : 50 Pituglandol verhielten sich gewisse Gefäße refraktär. Als eine typische Erscheinung darf die Auslösung von rhythmischen Erscheinungen durch Pituglandol betrachtet werden, wie dies De Bonis und Susanna auch angeben. Eine primäre Verlängerung der distalen Gefäßstreifen, wie sie von Pal und Cow für die Nierenarterie, von Cow für die Art. mesent. gastrica, splenica und coronaris cordis beobachtet wurden,

---

[1]) Herring, Amer. journ. of physiol. **31**, 429. 1904.

[2]) D. Kepinow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **67**. 1912.

[3]) W. Rischbieter, Zeitschr. f. d. ges. exp. Med. **1**, 355. 1913.

[4]) Das Pituglandol wurde mir von der Firma Hoffmann La Roche in Basel in freundlicher Weise zugestellt.

konnte ich bei den angewandten Pituglandoldosen nie registrieren. Dagegen trat in einem Versuche mit einem proximalen und distalen Gefäßstreifen einer Art. gastrica nach dem Auswaschen der Gefäße auf eine Pituglandoldosis von 1 : 100 eine leichte Verlängerung der Gefäßstreifen ein. Ferner beobachtete ich in zwei Versuchen ein verschiedenes Verhalten der Erregbarkeit des proximalen und des distalen Streifens der Nierenarterie gegenüber Adrenalin



Abb. 10. Art. mesenterica vom Rind. Belastung des Gefäßes 20 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Bei der Marke 3 wird Pituglandol 1 : 100 zugefügt, was eine schöne rhythmische Tätigkeit ohne wesentliche Tonusveränderung zur Folge hat.

und Pituglandol. Der proximale Streifen war dabei empfindlicher auf Adrenalin, der distale auf Pituglandol. Der Unterschied der proximalen und distalen Gefäßstreifen im Verhältnis gegenüber Pituglandol, wie dies Pal und Cow angeben, kann ich nicht bestätigen, denn in meinen Versuchen an 20 verschiedenen Nierenarterien verhielten sich dieselben gleichartig und wenn ein Erfolg erzielt wurde, so war es eine Verkürzung. Ich glaube nicht, daß



Abb. 11. Art. renalis vom Stier. Der obere ist ein proximaler, der untere ein distaler Gefäßstreifen von demselben Gefäße. Belastung je 20 g. Zeitschreibung alle 6 Sek. Bei der Marke 2 wird Pituglandol 1 : 100 zugesetzt, worauf in beiden Gefäßen eine langsam ansteigende Gefäßkontraktion erfolgt.

die erwähnten Erscheinungen der sekundären Erweiterung nach dem Auswaschen und die verschiedene Erregbarkeit von Nierengefäßen gegenüber Adrenalin und Pituglandol genügend Anhaltspunkte bieten für die Annahme von Pal und Cow. Allerdings fanden Magnus und Schäfer[1]) und Schäfer und Herring[2]) nach intravenöser Injektion von Hypophysenextrakt neben einer gesteigerten Nierensekretion meist auch eine Gefäßerweiterung

---

[1]) Magnus und Schäfer, Journ. of physiol. **27**, 9. 1901—02.

[2]) Schäfer und Herring, Proc. of Roy. Soc. London **77**, 571. **1906**.

und Hallion und Carrion[1]) konstatierten auf Hypophysenextrakt eine primäre Verengerung der Nierengefäße mit nachfolgender anhaltender Erweiterung derselben. Aus all dem geht hervor, daß der Einfluß des Hypophysenextraktes auf die Nierengefäße nicht eindeutig dargelegt ist. Eine Durchsicht der bestehenden Literatur über die Wirkung des Hypophysenextraktes auf den Blutdruck überhaupt zeigt uns ebenfalls divergierende Ansichten, was ohne Zweifel mit der komplexen chemischen Zusammensetzung aller bisherigen Hypophysenextrakte in Zusammenhang steht. Durch Fühners[2]) chemische und biologische Arbeiten ist diese Ansicht gut begründet. Solange wir nicht mit definierten Substanzen arbeiten können, wie beim Adrenalin, wird die Erstrebung einheitlicher Resultate illusorisch sein.

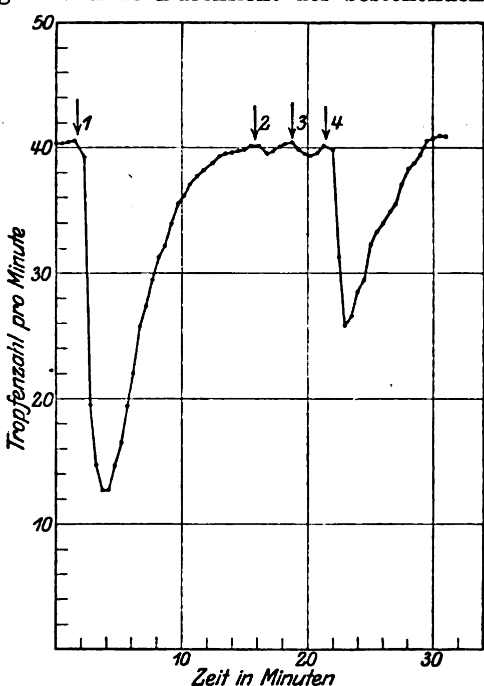


Abb. 12. Versuch am isoliert durchströmten Kaninchenohr. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlauf-methode von Fleisch. Versuchstemperatur 14°.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 1 000 000 Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 1 000 schwache Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 100 schwache Gefäßverengerung.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10 starke Gefäßverengerung.

b) Versuche am isolierten Kaninchenohr.

Mit Pituglandol La Roche kann beim Kaninchenohr regelmäßig eine Verengerung der Gefäße ausgelöst werden, absolute Versager bis zu Dosen von 1 : 10 habe ich nie beobachtet. Dosen von 1 ccm 1 : 10000—50000 des 20 proz. Pituglandol

[1]) Hallion und Carrion, Soc. de thér. Mars. 1907 und Bull. génér. de thér. 1907, S. 459.

[2]) H. Fühner, Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 16, S. 853; Deutsch. med. Wochenschr. 1913, Nr. 11, S. 491.

(auf die Trockensubstanz bezogen) können noch eine Wirkung ausüben, wie dies auch von Rischbieter[1]) beobachtet wurde. Wiederholung des Pituglandoleffektes ist an demselben Präparate möglich. Unter gleichen Versuchsbedingungen hat Pituglandol in einer ca. 10 000—100 000fach stärkeren Dosis denselben vasoconstrictorischen Effekt wie das Adrenalin, was übrigens mit den Versuchen an isolierten Gefäßstreifen übereinstimmt. Eine Gefäßerweiterung durch Pituglandol habe ich am Kaninchenohr nicht konstatiert. Die Abb. 12 gibt ein Beispiel für die Wirkungsweise des Pituglandols auf das Kaninchenohr wieder.

c) Versuche an künstlich durchströmten Gefäßgebieten des Frosches.

I. Versuche an der Froschhinterextremität.

Pituglandol La Roche hat auf die Gefäße der künstlich durchströmten Hinterextremität des Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmarke einen vasoconstrictorischen Einfluß. Eine Dosis 1 ccm 1 : 20 000 war noch wirksam. Dieser vasoconstrictorische Effekt kann bei diesem Gefäßpräparat in der Regel mit derselben Dosis und demselben Erfolge wiederholt werden. Als eine typische Erscheinung kann die Auslösung von Rhythmus betrachtet werden, wie dies in beiden Abb. 13 und bei 14 demonstriert ist. Die rhythmischen Schwankungen sind meist unregelmäßiger als jene bei isolierten Gefäßstreifen. Die vasoconstrictorische Wirkung von Pituglandol auf die Froschhinterextremität kann aber nicht mit jeder Regelmäßigkeit ausgelöst werden,

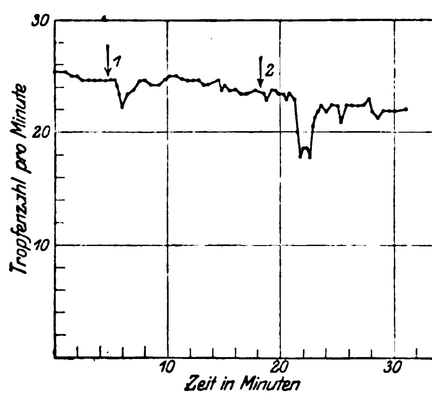


Abb. 13. Isolierte Durchströmung der linken Hinterextremität eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch. Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10 000, es folgt eine schwache Verengerung des Gefäßes. Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10 000, es erfolgt wieder eine etwas stärkere Gefäßkontraktion. Während des ganzen Versuches nach der ersten Pituglandolinjektion sind kleine rhythmische Tonusschwankungen zu beobachten. Zwei weitere Injektionen von derselben Konzentration sind von demselben Erfolge begleitet.

[1]) Rischbieter, l. c. S. 311.

selbst Dosen von 1 ccm 1 : 10 können unwirksam sein. Meine Resultate stimmen mit jenen von Herring[1]) und Kepinow[2]) überein, differieren dagegen mit jenen von Fröhlich und Pick[3]), welche bei demselben Versuchsobjekt mit Pituglandoldosen von 1 ccm 1 : 50—100 eine Gefäßerweiterung beobachteten, also mit Konzentrationen, die mir nur eine Verengerung ergaben. Fröhlich und Pick konstatierten eine Gefäßerweiterung besonders deutlich, wenn der Gefäßtonus vorerst durch eine tonus-

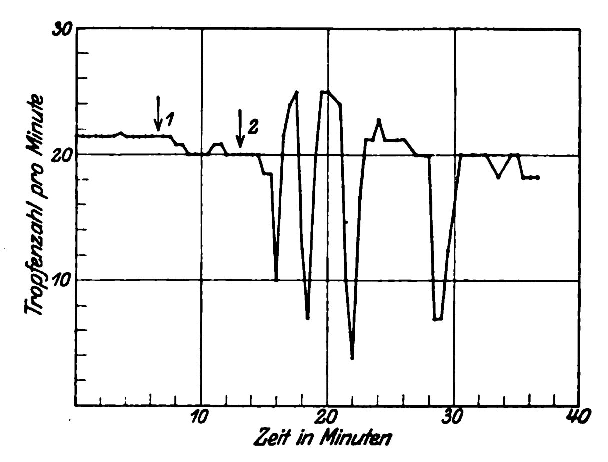


Abb. 14. Isolierte Durchströmung der linken Hinterextremität eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 1000, es erfolgt eine leichte Abnahme der Tropfenzahl.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10, es erfolgt eine Gefäßverengerung, welche in sehr ausgeprägten Rhythmus übergeht.

erhöhende Substanz erhöht wurde. Aber auch unter diesen Bedingungen konstatierte ich ausschließlich einen constrictorischen Effekt durch Applikation von Pituglandol (siehe Abb. 7, S. 306). Da Fröhlich und Pick dasselbe Pituglandolpräparat für ihre Versuche verwendeten, wie ich, bleibt diese Differenz unaufgeklärt. Der von Fröhlich und Pick angenommene Antagonismus der Wirkungsweise von Adrenalin und Pituglandol wird durch die experimentellen Ergebnisse widerlegt.

---

[1]) Hering, Journ. of physiol. **31**, 429. 1904.
[2]) Kepinow, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **67**. 1912.
[3]) Fröhlich und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **74**, 107. 1913.



2. Versuche am gesamten Gefäßsystem und am Splanchnicusgebiet des Frosches.

Wie die Abb. 15 zeigt, hat Pituglandol auf das Gefäßsystem des Frosches, von der Aorta aus durchströmt, eine vasoconstrictorische Wirkung, dieselbe tritt sowohl bei niedrigem,

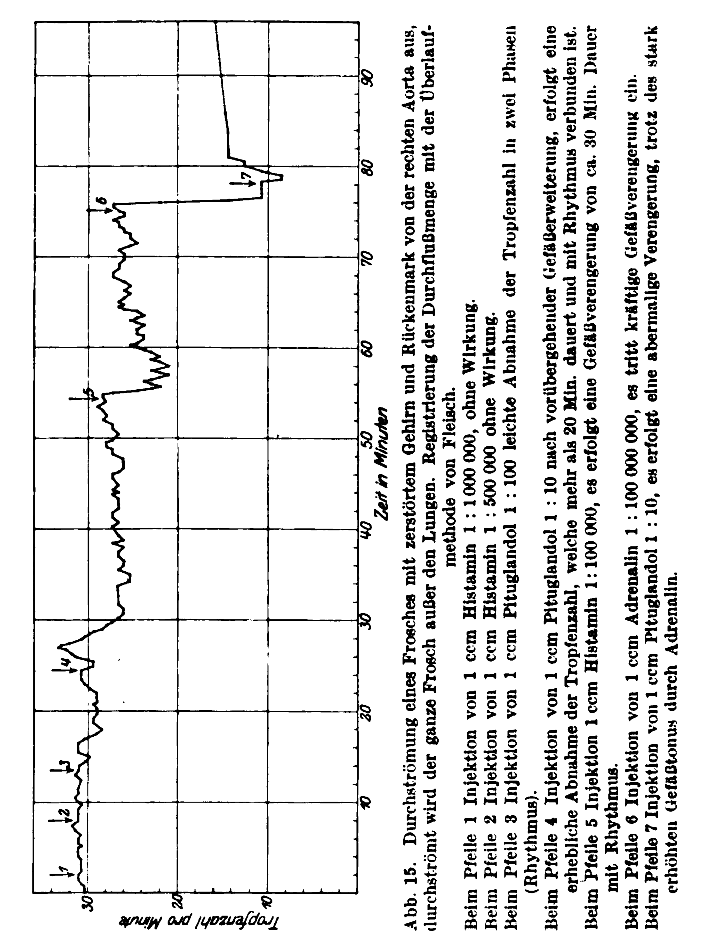


Abb. 15. Durchströmung eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark von der rechten Aorta aus, durchströmt wird der ganze Frosch außer den Lungen. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 1 000 000, ohne Wirkung.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Histamin 1 : 500 000 ohne Wirkung.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 100 leichte Abnahme der Tropfenzahl in zwei Phasen (Rhythmus).
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10 nach vorübergehender Gefäßerweiterung, erfolgt eine erhebliche Abnahme der Tropfenzahl, welche mehr als 20 Min. dauert und mit Rhythmus verbunden ist.
Beim Pfeile 5 Injektion 1 ccm Histamin 1 : 100 000, es erfolgt eine Gefäßverengerung von ca. 30 Min. Dauer mit Rhythmus.
Beim Pfeile 6 Injektion von 1 ccm Adrenalin 1 : 100 000 000, es tritt kräftige Gefäßverengerung ein.
Beim Pfeile 7 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 10, es erfolgt eine abermalige Verengerung, trotz des stark erhöhten Gefäßtonus durch Adrenalin.

wie durch Adrenalin erhöhtem Gefäßtonus auf. Ein analoger Versuch ist in der Abb. 7, S. 306, wiedergegeben (7. Injektion). In der Abb. 15 sehen wir ferner, daß Pituglandol nach vorheriger Adrenalininjektion die Erschlaffung der kontrahierten Gefäße nicht fördert, sondern die Gefäße werden noch mehr verengert. Die wirksamen Dosen sind in derselben Größenordnung wie bei

der Hinterextremität. Der Erfolg ist auch hier inkonstant. Die Versuche bei Durchströmung des Splanchnicusgebietes von der einen Aorta aus, bei Unterbindung der Aorta abdominalis, ergaben mir ganz übereinstimmende Resultate. Die Abb. 15 (4. Injektion) zeigt aber, daß Pituglandol gewisse Gefäße des Frosches zu dilatieren vermag, denn die Injektion von 1 ccm 1 : 10 Pituglandol hat nach einer schwachen und flüchtigen Kontraktion eine Zunahme der Tropfenzahl zur Folge, welche aber nur von kurzer Dauer ist und dann von einer stärkeren lange dauernden Gefäßverengerung gefolgt ist. Eine solche vasodilatorische Beeinflussung bei Durchströmung des ganzen Frosches, sowie der Splanchnicusgefäße habe ich tatsächlich, aber selten und gewöhnlich nur durch schwache Dosen beobachtet. Da bei der Froschhinterextremität eine solche Beeinflussung durch Pituglandol nie beobachtet wurde, sondern nur in den Versuchen bei Durchströmung des ganzen Frosches und der Splanchnicusgefäße, so ist daran zu denken, daß Pituglandol bei gewissen Gefäßen des Splanchnicusgebietes sowohl den vasodilatatorischen als den vasoconstrictorischen Mechanismus zu erregen vermag.

d) Versuche an den Lungengefäßen des Frosches.

Die vasotonisierende Wirkung von Pituglandol auf die künstlich durchströmten Lungengefäße des Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark kann ohne Zweifel eine doppelsinnige sein, wie aus den Versuchen der Abb. 16 u. 17 hervorgeht, da primär entweder eine Gefäßerweiterung oder eine Verengerung derselben eintritt. Diese primäre Wirkung durch Pituglandol wird häufig durch eine sekundäre antagonistische abgelöst, eine primäre Erweiterung von einer sekundären Verengerung und vice versa. Dies ist in Abb. 16 u. 17 ganz eindeutig wiedergegeben. Es zeigt sich nun, daß der jeweilige Erfolg des Pituglandols auf diese Lungengefäße eine Funktion der Konzentration ist. Schwache Dosen lösen eine Gefäßerweiterung (Abb. 49, 1. Injektion), mittlere Dosen eine primäre Verengerung, mit sekundärer Erweiterung (Abb. 17, 2., 3. u. 4. Injektion), starke Dosen ausschließlich eine Gefäßverengerung. Dies dürfte die Regel sein. Da aber Pituglandol offenbar sowohl den vasoconstrictorischen wie den vasodilatatorischen Mechanismus der Froschlungengefäße zu erregen vermag

und die Erregbarkeit der verschiedenen Präparate nicht gleich ist, kann eine genaue Abgrenzung der ausschließlich constrictorisch bzw. dilatatorisch wirksamen Dosen nicht durchgeführt werden. Es ist auch hier zu erwähnen, daß innerhalb der angewandten Dosen, d. h. bis 1 ccm 1 : 10, ab und zu Versager auftreten können. Wenn wir ferner noch die Verhältnisse der wirksamen Dosen für Adrenalin und Pituglandol auf die Lungengefäße des Frosches betrachten, so sehen wir, daß Adrenalin auf das 20 proz. Pituglandol La Roche bezogen, in ca. 10 000 fach stärkerer Verdünnung dieselbe Wirkung hat wie Pituglandol. Es ist dies

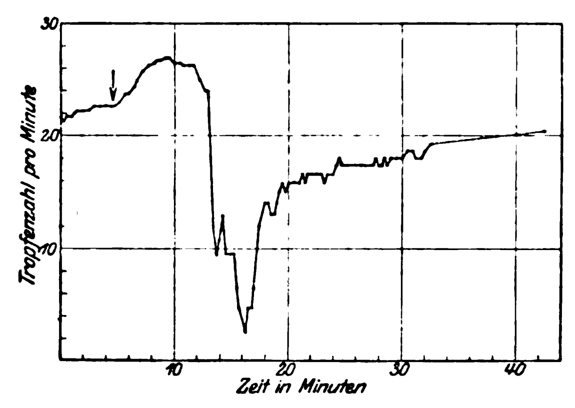


Abb. 16. Isolierte Durchströmung der linken Lunge eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch. Beim Pfeile wird 1 ccm Pituglandol 1 : 100 injiziert. Es erfolgt erst eine mäßige Zunahme der Tropfenzahl (Gefäßerweiterung), welche von einer sehr kräftigen Gefäßkontraktion gefolgt ist. Auch hier sind rhythmische Schwankungen zu erkennen. Die Erholung der Lungengefäße geht sehr langsam vor sich.

ein Verhältnis, wie wir es auch für isolierte Gefäßstreifen gefunden haben.

Wenn wir die Wirkung des Pituglandols auf die untersuchten überlebenden Gefäße zusammenfassen, so können wir sagen, daß diese vasotonisierende Substanz auf isolierte Gefäßstreifen mit Sicherheit nur eine Verkürzung verursacht: oft wird Rhythmus ausgelöst, ohne daß der Tonus verändert wird. Ein Unterschied der Arterienstreifen verschiedener Gefäßgebiete wurde nicht konstatiert. Die Gefäße des Kaninchenohres werden durch Pituglandol regelmäßig kontrahiert. Die Gefäße der Froschhinterextremität, des ganzen Frosches (mit Ausnahme der Lungengefäße), des Splanchnicusgebietes können durch Pitu-

glandol kontrahiert werden, die Wirkung tritt nicht regelmäßig ein. Eine Gefäßerweiterung durch Pituglandol habe ich nur ausnahmsweise beim Durchströmen des ganzen Frosches und des Splanchnicusgebietes beobachtet, nie an der Hinterextremität oder isolierten

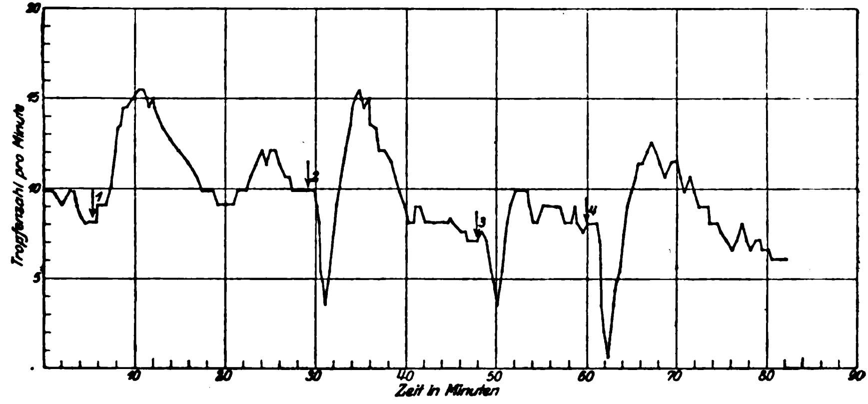


Abb. 17. Isolierte Durchströmung der rechten Lunge eines Frosches mit zerstörtem Gehirn und Rückenmark. Registrierung der Durchflußmenge mit der Überlaufmethode von Fleisch.
Beim Pfeile 1 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 1000, Gefäßerweiterung.
Beim Pfeile 2 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 100, auf eine Gefäßverengerung folgt sekundär eine Gefäßerweiterung.
Beim Pfeile 3 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 100, derselbe Effekt wie nach der II. Injektion, nur schwächer.
Beim Pfeile 4 Injektion von 1 ccm Pituglandol 1 : 50, wieder folgt auf eine primäre kräftige Kontraktion eine sekundäre Dilatation.

Gefäßstreifen. Pituglandol vermag je nach der angewandten Dosis sowohl den vasoconstrictorischen als den vasodilatatorischen Mechanismus der Lungengefäße des Frosches zu erregen. Die Pituglandolwirkung auf diese Gefäße ist gewissermaßen das Resultat einer Konkurrenz zwischen diesen beiden Gefäßmechanismen.

6. Untersuchungen über die Wirkungsweise eines aktiven Prinzipes der Milz (Lienin) auf überlebende Gefäße.

Stern und Rothlin[1]) haben in verschiedenen Mitteilungen über die Wirkungsweise von Milzextrakten an überlebender glatter Muskulatur berichtet, woselbst auch die Herstellung und

[1]) Stern und Rothlin, Compt. rend. de la soc. de phys. et d'histoire naturelle de Genève **24**, 1416; Verh. der schweiz. Naturf. Gesellsch. 1917, S. 306; Journ. de physiol. et pathol. génér. **18**, 441. 1919; **18**, 753. 1919.

Reinigung des aktiven Prinzipes behandelt ist. Das Resultat der chemischen Untersuchungen, wie sie dort beschrieben und seither von mir fortgesetzt wurden, ist noch nicht so weit gediehen, daß ein analysenreifes Produkt vorliegt. Die hohe Wirksamkeit eines wässerigen und besonders des alkoholischen Milzextraktes,

Tabelle I.

Tabellarische Übersicht über die Wirkungsweise der untersuchten vasotonisierenden Substanzen auf isolierte Gefäßstreifen und künstlich durchströmte Gefäßgebiete.

Art der Gefäße	Oxalat-blut	Blut-serum	Adre-nalin	Hypo-physin	Hista-min	Lienin
Art. carotis v. Typ. bov. et equin.	K	K	K	(K)	K	K
Art. femoralis v. Typ. bov. et equin.	K	K	K	(K)	K	K
Art. mesenterica v. Typ. bov. et equin.	K	K	K	(K)	K	K
Art. gastrica v. Typ. bov.	K	K	K	(K)	K	K
Art. splenica v. Typ. bov.		K	K	(K)	K	K
Art. renalis v. proximalen und distalen Abschnitt v. Typ. bov. et equin.		K	schw.: D st. K	(K)	K	K
Art. pulmonalis v. extra- u. intrapulmonalen Abschnitt, v. Typ. bov. et equin.		K	K	(K)	K	K
Art. coronaris cordis v. Typ. bov.		K	schw.: (K) st.: D	(K)	K	K
Art. coronaris cordis v. Typ. equin.		K	K	(K)	K	K
Kaninchenohr			K	K	K	K
Hinterextremität des Frosches			K	K	K	K
Splanchnicusgebiet des Frosches			K	schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K
Gesamtgefäßgebiet des Frosches außer den Lungen			K	schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K
Lungengefäße des Frosches			schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K	schw.: (D) st.: K	

K = Kontraktion; D = Dilatation; () bedeutet, daß diese Wirkungsweise beobachtet wurde, aber nicht regelmäßig. schw. bedeutet schwache Dosis; st. bedeutet starke Dosis.

der Nachweis, daß es sich nicht um ein autolytisches Produkt der überlebenden Milz handelt, das konstante Vorkommen bei allen untersuchten Tierarten, berechtigen die Ansicht, daß es sich hier evtl. um ein Produkt von physiologischer Bedeutung handelt. Wir haben dieses aktive Prinzip Lienin genannt, wodurch über dessen chemische Konstitution nichts präjudiziert wird. Ich unterlasse eine Wiederholung der experimentellen Daten, wie sie in den genannten Arbeiten publiziert sind, und verweise auf die nebenstehende tabellarische Übersicht. Daraus erhellt, daß Lienin die isolierten Gefäßstreifen, die Gefäße des Kaninchenohres und jene der verschiedenen Organgebiete des Frosches vasoconstrictorisch beeinflußt. Meine neuen Untersuchungen bei Durchströmung des ganzen Frosches von der einen Aorta aus, sowie des Splanchnicusgebietes ergaben, daß Lienin in kleinsten Dosen gefäßerweiternd wirken kann. Weiterhin beobachtete ich einen Unterschied in der Erregbarkeit der verschiedenen überlebenden Gefäße, indem isolierte Gefäßstreifen und die Gefäße des Kaninchenohres mit größerer Regelmäßigkeit und in relativ geringeren Dosen auf Lienin reagieren, als die Gefäße des Frosches. Damit konstatieren wir eine Analogie mit der Wirkungsweise des Histamins.

Diskussion der Resultate.

Die experimentellen Ergebnisse im speziellen Teile haben uns davon überzeugt, daß die Wirkungsweise des Adrenalins auf die untersuchten überlebenden Gefäßsubstrate keine einheitliche ist. Denn bei den einen Gefäßen wird der vasoconstrictorische, bei anderen der vasodilatatorische und bei dritten beide Gefäßmechanismen durch Adrenalin erregt. Diese Tatsache einer bivalenten Reaktionsweise gewisser überlebender Gefäße gegenüber Adrenalin steht in Übereinstimmung mit derselben Erscheinung erzeugt durch die indirekte, chronaxisch abgestufte elektrische Reizung der zu den Gefäßen führenden Nerven. Drei Gesichtspunkte sind es, welche diese qualitativ verschiedene Reaktionsweise überlebender Gefäße gegenüber Adrenalin charakterisieren:

1. Das verschiedene Verhalten überlebender Gefäße verschiedener Organgebiete, bzw. die Herkunft der Gefäße nach Organgebiet.

2. Das verschiedene Verhalten derselben Gefäße verschiedener Tierarten, bzw. die Tierart.
3. Die verschiedene Beeinflußbarkeit derselben Gefäße je nach der angewandten Dosis, bzw. die Intensität des Adrenalinreizes.

Die tabellarische Übersicht auf S. 320 belegt das Gesagte am besten und am kürzesten.

Das Verhalten überlebender Gefäße verschiedener Organgebiete bezieht sich nicht nur auf qualitative, sondern auch auf quantitative Unterschiede, indem z. B. die Lungengefäße des Frosches eine geringere Erregbarkeit gegenüber Adrenalin aufweisen als die übrigen Gefäßgebiete desselben Tieres (Extremitäten, Splanchnicusgebiet usw.). Wir haben ferner gesehen, daß der vasoconstrictorische Effekt selbst durch schwache Adrenalindosen, speziell bei gewissen isolierten Gefäßstreifen von sehr langer Dauer ist. Dies trifft nicht zu für die Nieren und Lungengefäße, für welche wir den raschen Eintritt der Erschlaffung nach erreichtem Kulminationspunkt der Tonuserhöhung auf einen primär vasoconstrictorischen Adrenalinreiz als charakteristisches Merkmal bezeichnet haben. Wenn wir nun die Wirkungsweise des Adrenalins in vivo nach intravenöser Injektion mit den Beobachtungen am überlebenden Organe vergleichen, so ergibt sich a priori ein frappanter Unterschied, da der typische Adrenalineffekt in vivo in einer flüchtigen Blutdruckerhöhung besteht und selbst sehr starke Dosen nicht einen anhaltenden Effekt auszulösen imstande sind. Ich glaube nicht, dieses verschiedene Verhalten der Wirkungsdauer darauf zurückführen zu können, daß Adrenalin beim Versuch am überlebenden Organ speziell bei der Gefäßstreifenmethode länger mit dem Versuchsobjekt in Kontakt bleibt als in vivo. Denn Adrenalin wird in Ringerlösung bei O_2-Gegenwart und in den von mir verwendeten Dosen sehr rasch schon nach wenigen Minuten zerstört. Anderseits habe ich mich davon überzeugt, daß Adrenalin im def. Blute bzw. Blutserum trotz derselben Alkalität und O_2-Gegenwart sich stundenlang konservieren läßt. Es bleibt uns somit nur noch die Annahme, daß in vivo sich rasch Mechanismen geltend machen, welche die künstlich verursachte Blutdruckerhöhung kompensatorisch regulieren bzw. den Blutdruck nivellieren. Es ist nicht meine Absicht, hier jene Faktoren zu verfolgen, welche in vivo

durch direkte Adrenalinreizung (Herz) oder im Sinne einer sensorischen Kontrolle reflektorisch einspringen; ich möchte nur jene Erscheinungen anführen, welche auf Grund meiner Studien am überlebenden Organe evtl. eine Rolle übernehmen können. Dabei denke ich an die Tatsache, daß gewisse überlebende Gefäße durch Adrenalin dilatatorisch beeinflußt werden [Art. coronaris cordis v. Typ. bov., Art. renalis und pulmonalis, die Gefäße des Darmes (Ogawa)]. Dann ist es keine Seltenheit, daß sowohl isolierte Gefäßstreifen wie künstlich durchströmte Gefäßgebiete auf die Kontraktionsphase eine sekundäre Dilatation aufweisen. Diese an überlebenden Gefäßen gemachten Beobachtungen können wohl in vivo eine durch Adrenalin erzielte Blutdruckerhöhung in ihrer Intensität und Dauer beeinflussen. Ich glaube aber nicht, daß sie für die Flüchtigkeit der Adrenalinwirkung in vivo eine nennenswerte Rolle spielen, wir müssen vielmehr die hauptsächlichen Ursachen in den zentral bzw. reflektorisch ausgelösten Vorgängen suchen, welche kompensatorisch eingreifen. Zwischen der Dauer der Adrenalinwirkung in vivo und am überlebenden Organ besteht somit eine Diskrepanz.

Die Untersuchungen von Neujean[1]), Moore und Purington[2]), Elliott[3]) sowie Hoskins und McClure[4]) haben ferner ergeben, daß die ersten wirksamen Adrenalindosen nach intravenöser Injektion eine Gefäßerweiterung bzw. eine Blutdrucksenkung auslösen. Eigene Versuche am Kaninchen ergaben mir dasselbe Resultat mit Dosen von 1 ccm 1 : 10—50 000 000. Außerdem beobachtete ich, daß die ersten eben blutdrucksteigernden Adrenalindosen von einer stärkeren sekundären Blutdrucksenkung gefolgt waren als folgende stärkere Adrenalindosen. Diese Erscheinungen der Adrenalinwirkung in vivo sind nach meinen bisherigen Erfahrungen auch dadurch gekennzeichnet, daß sich der vasodilatatorische Gefäßmechanismus am besten zu Beginn des Experimentes erregen läßt und nach Applikation einiger constrictorisch wirksamen Dosen eine primäre Blutdrucksenkung kaum mehr auslösbar ist. Ich glaube, daß wir in diesen vasodilatatorischen Erscheinungen der Adrenalinwirkung in vivo

[1]) Neujean, Arch. internat. de pharmacodyn. **13**, 45. 1094.
[2]) Moore und Purington, Arch. f. d. ges. Physiol. **81**, 483. 1900.
[3]) Elliott, Amer. journ. of physiol. **32**, 401. 1905.
[4]) Hoskins und McClure, Amer. journ. of physiol. **31**, 59. 1912.

ein Pendant zu jenen am überlebenden Organe haben. Dafür spricht das experimentelle Ergebnis, daß Adrenalin an den genannten überlebenden Gefäßen in kleinsten Dosen eine Gefäßerschlaffung, in stärkeren Dosen aber mit jeder Regelmäßigkeit eine Gefäßkontraktion verursachen. Wir müssen daher heute als typische Adrenalinwirkung sowohl die Möglichkeit der Erregung des vasodilatatorischen als des vasoconstrictorischen Gefäßmechanismus bezeichnen. Unter welchen Bedingungen im speziellen Falle das eine oder andere zutrifft, habe ich am überlebenden Organe zu untersuchen versucht, im experimentellen Teile ausführlich analysiert und hier synthetisiert. In Anbetracht der prinzipiell übereinstimmenden Ergebnisse in vivo und am überlebenden Organe dürfen wir nicht zögern, die Erscheinungen der Blutdruckveränderungen bzw. Querschnittsveränderungen der verschiedenen Gefäße durch Adrenalin zum allergrößten Teile als rein periphere den Gefäßen eigenen Vorgänge zu betrachten, welche allerdings durch zentral oder reflektorisch ausgelöste Vorgänge reguliert werden können.

Durch die Untersuchungen einer ganzen Reihe von Forschern, ich erwähne speziell Lewandowsky, Langley und Elliott, wurde bekanntlich eine funktionelle Beziehung zwischen der Adrenalinwirkung und dem sympathischen Anteile des autonomen Nervensystems erkannt, welche dann durch den embryologischen Nachweis eines genetischen Zusammenhanges zwischen Adrenalsystem und dem Sympathicus eine Erhärtung erfahren hat. Adrenalin wirkt nach diesen Autoren auf die sympathisch innervierten Organe, und der jeweilige Adrenalineffekt am Erfolgsorgan kommt einer Reizung der zugehörigen sympathischen Fasern gleich. Diese Übereinstimmung der Adrenalinwirkung und der sympathischen Nervenreizung zeigt sich angeblich besonders gut in der motorischen Beeinflussung der glatten Muskulatur, insbesondere bei den Gefäßen. Daher wurde sie für die Erforschung der vasomotorischen sympathischen Innervation der Gefäße herangezogen. Es hat sich gezeigt, daß dieser Zusammenhang hinsichtlich der Vasoconstrictoren sozusagen glatt stimmt. Denn da, wo mit Sicherheit bisher Vasoconstrictoren festgestellt sind, gehören sie dem Sympathicus an, und Adrenalin kann daselbst eine Kontraktion verursachen. Eine sympathisch vasoconstrictorische Innervation ist bisher für die Gefäße des

Herzens, der Lungen und des Gehirns strittig. Die Untersuchungen von Brodie und Cullis[1]) beim künstlich durchströmten Herzen, die meinen an überlebenden Herzkranzarterien vom Pferde und vielleicht auch vom Rinde beweisen, daß Adrenalin die Herzkranzgefäße, wenigstens unter gewissen Bedingungen zu verengern vermag, und zwar mit Dosen, wie sie für Gefäße mit nachgewiesener sympathischer vasoconstrictorischer Innervation notwendig sind. Diese Bedingungen sind einmal die Intensität des Reizes, indem beim Kaninchen und Rindvieh nur geringste Dosen Adrenalin verengernd wirken, dann bestehen offenbar Unterschiede bei verschiedenen Tierarten. Eine vasoconstrictorische Beeinflussung der Lungengefäße durch Adrenalin können wir heute mit Sicherheit annehmen, wenn auch mit Bezug auf Tierart und wirksamen Dosen gegenüber anderen Gefäßen Unterschiede bestehen. Denn die Versuche am überlebenden Organ wie jene in vivo sprechen mit Entschiedenheit dafür, daß die Lungengefäße durch Adrenalin weniger intensiv beeinflußt werden. Eine Ausnahme machen aber die isolierten Gefäßstreifen von Typ. bov. et equinus, da sie keine geringere Erregbarkeit gegenüber Adrenalin besitzen wie Mesenterialgefäße z. B. Über die Gefäße des Gehirns habe ich keine eigenen Erfahrungen, aber von Biedl und Reiner[2]) u. a. ist bei diesen Gefäßen ein verengender Einfluß durch Adrenalin beobachtet worden. Da unsere obige Analyse eine Übereinstimmung der Ergebnisse am überlebenden Organe und in vivo, insoweit eine Eindeutigkeit der Resultate überhaupt besteht, ergeben hat, so ist auch für die überlebenden Gefäße, Herzkranzarterien und Lungenarterien nicht anzunehmen, daß es sich nun gerade hier um ein spezielles Verhalten des überlebenden Organes handeln kann. Wenn daher diese Gefäße sich unter den genannten Bedingungen wie jene mit anerkannt sympathischer vasoconstrictorischer Innervation gegenüber Adrenalin verhalten, und wenn die Elliottsche Auffassung richtig ist, so liegt gar kein Grund vor, diesen Gefäßen sympathische Vasoconstrictoren abzusprechen.

Weniger übersichtlich liegen die Verhältnisse für die Vasodilatatoren, und die Beantwortung dieser Frage bietet ent-

[1]) Brodie und Cullis, The innervation of the coronary vessels. Journ. of physiol. 43, 313. 1911.

[2]) Biedl und Reiner, Arch. f. d. ges. Physiol. 79. 1899.

schieden große Schwierigkeiten. Eine Gefäßerweiterung an isolierten Gefäßstreifen und künstlich durchströmten Organen durch Adrenalin haben wir an der Art. coronaris cordis von Typ. bov. und beim Schwein, Art. renalis, sowie an den Froschlungengefäßen beobachtet. Mittels indirekter elektrischer Reizung sympathischer Nerven ist von Maas[1]) für die Herzkranzgefäße, von Bradford[2]) für die Nieren- und Splanchnicusgefäße, von Dastre und Morat[3]) für die Gefäße des Mundes ein vasodilatatorischer Effekt erzielt worden. Nach der anatomischen Lokalisation verlassen diese sympathischen Nerven das Rückenmark mit den Vorderwurzeln. Andererseits hat Stricker[4]) 1876 durch Reizung des peripheren Endes der Hinterwurzeln eine Gefäßerweiterung beschrieben. welche von Gärtner[5]) bestätigt wurde. Bayliss[6]) gelang es, zwar ebenfalls durch Reizung von Hinterwurzeln an der Hinterextremität eine Gefäßerweiterung zu erzeugen. Aber Bayliss konnte nachweisen, daß die gereizten Nerven Neuriten von Spinalganglien der Hinterwurzeln sind und die Gefäßerweiterung auf dem Wege eines Axonreflexes „antidromically" durch Kollateralen zustande kommt, welche von den sensiblen Fasern zu den Gefäßen der Haut gehen. Denn nach der Entfernung der Haut konnte diese Wirkung nicht mehr erzielt werden. Ferner können wir mit der Methode der Nervendegeneration und der chronaxisch abgestuften Nervenreizung eine Gefäßerweiterung auslösen. Und schließlich besitzen wir Mittel, um mit Adrenalin da eine Gefäßerweiterung zu erzielen, wo normalerweise eine Kontraktion beobachtet wird, so nach Einwirkung von Ergotoxin nach Dale[7]) und angeblich nach Durchströmung eines Gefäßpräparates mit Ca-freier Ringerlösung nach Pearce[8]). Alle diese Daten sind aber so wenig eindeutig oder unter abnormen Versuchsbedingungen ausgeführt, daß wir daraus nicht auf die Existenz spezieller anatomisch definierter Vasodilatatoren schließen dürfen. Meine Ver-

---

[1]) Maas, Arch. f. d. ges. Physiol. 74, 281. 1899.

[2]) Bradford, Proc. of the royal. Soc. of London 45, 369. 1889.

[3]) Dastre und Morat, Compt. rend. de la soc. de biol. 41, 393. 1810.

[4]) Stricker, Sitzgber. d. Akad. der Wissensch. Wien 74, 173. 1876. III. Abt.

[5]) Gärtner, Zentralbl. f. Physiol. 3, 761. 1889.

[6]) Bayliss, Amer. journ. of physiol. 26, 173. 1901.

[7]) H. H. Dale, Amer. journ. of physiol. 34, 163. 1906.

[8]) Pearce, Zeitschr. f. Biol. 62, 243. 1913.

suchsergebnisse an genannten überlebenden Gefäßen beweisen aber, daß wir mit Adrenalin gewissermaßen unter physiologischen Bedingungen, d.h. ohne Ausschaltung der vasoconstrictorischen Beeinflußbarkeit eine Gefäßerweiterung auslösen können. Diese Beobachtungen decken sich übrigens gut mit den Erfahrungen in vivo. Dieselben Gefäße erleiden durch entgegengesetzte Adrenalindosen eine Kontraktion. Wenn daher die Auffassung über den funktionellen Zusammenhang zwischen der Adrenalinwirkung und sympathischer Innervation zu Recht besteht, so müssen wir logischerweise schließen, daß diese Gefäße sowohl sympathische Constrictoren als Dilatatoren besitzen. Oder dann ist diese Auffassung nicht richtig und wir sind gezwungen, für diese bivalente Adrenalinwirkung eine andere Erklärung zu suchen. Einmal kann die Elliottsche Auffassung zu intensiv gefaßt sein und Adrenalin nicht nur wie sympathische Vasomotoren, sondern auch wie solche anderer Herkunft wirken. Die Gefäße können ferner nur sympathisch innerviert sein, und der jeweilige Adrenalineffekt ist dann der Ausdruck entweder einer Hemmung bzw. Dilatation oder einer Erregung bzw. Kontraktion des Gefäßes. Schließlich besteht die Möglichkeit, daß Adrenalin nicht durch Übermittlung eines nervösen Apparates, sondern auf den Muskel direkt einwirkt und mit der Innervation in keiner direkten funktionellen Beziehung steht. Ich möchte vorläufig nur die Tatsache festhalten, daß Adrenalin unter gewissen Bedingungen an derselben Gefäßart sowohl einen vasodilatatorischen als constrictorischen Gefäßmechanismus auszulösen vermag, also von bivalenter Wirkung sein kann. Ob wir für diese Wirkungsweise des Adrenalins zwei verschiedene reizübertragende anatomische Substrate bzw. nur eines annehmen müssen, oder als Angriffspunkt den Muskel selbst betrachten können, will ich hier nicht durch theoretische Erörterungen zu entscheiden versuchen, obwohl meine wiedergegebenen allgemeinen und speziellen Resultate mich dazu verleiten, die ich aber für bindende Schlüsse nicht hinreichend erachte. Ohne meinen experimentellen Daten, welche für die Untersuchung dieses Problems ausgeführt wurden, vorgreifen zu wollen, neige ich zu der letzten Hypothese einer direkten Muskelwirkung. Aber nicht in dem Sinne wie Cannon und Lyman[1]), welche den jeweiligen Tonuszustand der Gefäße für

[1]) Cannon und Lyman, Amer. journ. of physiol. 31, 376. 1913.

den Eintritt eines constrictorischen bzw. dilatatorischen Effektes verantwortlich machen, alle meine Erfahrungen sowohl am überlebenden Organ als in vivo sprechen gegen diese Ansicht. Die sehr lange Erregbarkeit überlebender Gefäße, das Fehlen von nervösen Organen mit zentralen Funktionen in den Gefäßen, die identische Adrenalinwirkung nach degeneriertem peripheren Nervennetz in denselben und der ganz zweifelhafte Nachweis von speziellen anatomischen definierten Vasodilatatoren (ausgenommen jene des autonomen Systems) bestärken mich in meiner Annahme. Nachdem ich die Wirkungsweise von anorganischen vasotonisierenden Substanzen als nächste Fortsetzung dieser Arbeit mitgeteilt habe, werde ich auf dieses Problem des Angriffspunktes der vasotonisierenden Substanzen zurückkommen. Dort werde ich mich auch mit den hier genannten Hypothesen und den Ansichten anderer Autoren über diesen Gegenstand auseinanderzusetzen haben.

Die experimentellen Ergebnisse über die Wirkungsweise des β-Imidazolyläthylamins oder Histamins an überlebenden Gefäßen sind ebenfalls nicht einheitlich. Ich verweise den Leser auf die tabellarische Übersicht S. 320. Isolierte Gefäßstreifen und die Gefäße des Kaninchenohres werden durch Histamin durchwegs in auch für Adrenalin wirksamen Dosen kontrahiert. Die künstlich durchströmten Gefäßgebiete des Frosches unterscheiden sich davon in qualitativer und quantitativer Hinsicht. Diese Gefäße sind allgemein gegenüber Histamin weniger erregbar, mit Ausnahme der Lungengefäße, wo in bezug auf Erregbarkeit für Adrenalin und Histamin ein guter Parallelismus besteht. Der qualitative Unterschied gegenüber den isolierten Gefäßstreifen äußert sich dadurch, daß die Gefäße des total durchströmten Frosches, des Splanchnicusgebietes und der Lungen durch geringste Histamindosen dilatiert, durch stärkere Dosen dagegen kontrahiert werden. Der dilatatorische Effekt ist zwar schwer zu treffen, wurde aber sicher konstatiert. Dale und Laidlaws beobachtete Diskrepanz im Verhalten des Blutdruckes in vivo gegenüber Histamin bei Hund und Katze einerseits, beim Kaninchen und Meerschweinchen anderseits findet gewissermaßen ein Analogon in meinen Versuchen beim Frosche. Dale und Laidlaw fanden aber, daß die Histaminwirkung beim Kaninchen vom Grade der Narkose weitgehend abhängig ist, indem bei schwacher

Narkose Blutdrucksenkung, bei intensiver Narkose dagegen Blutdruckerhöhung auftrat. Es scheint doch daraus hervorzugehen, daß die ausschließlich vasodilatatorische Histaminwirkung nicht die ursprüngliche periphere Gefäßwirkung darstellt, sondern evtl. eine zentral nervös bedingte Erscheinung ist. Dies ist um so wahrscheinlicher, als wir wissen, daß Histamin schon in geringen Dosen, dem Organismus auf intravenösem Wege einverleibt, zu einem schockartigen Zustande führt. Meine Ergebnisse an künstlich durchströmten Gefäßgebieten des Frosches dürften vielleicht eine Brücke schlagen zwischen der ausschließlich vasoconstrictorischen Wirkungsweise des Histamins auf isolierte Gefäßstreifen und isolierter, künstlich durchströmter Organe von Warmblütern (Dale und Laidlaw) einerseits und dem ausschließlich vasodilatatorischen Histamineffekt in vivo bei gewissen Tieren anderseits. Meine Versuchsresultate veranlassen mich daher zur Annahme, daß Histamin gewisse Gefäßgebiete unter bestimmten Bedingungen (Tierart und Konzentration) sowohl zu dilatieren als zu kontrahieren vermag. Eine Gefäßerweiterung würde aber nur durch geringste Dosen und bei gewissen Tierarten als ein Ausdruck eigentlicher peripherer Gefäßwirkung zu betrachten sein, stärkere Dosen dagegen ausschließlich und alle Gefäße vasoconstrictorisch beeinflussen. Der in vivo beobachtete dilatatorische Effekt wäre nicht eine periphere, sondern eine reflektorische, durch Histamin affizierter Zentren ausgelöste Gefäßerscheinung. Daß es sich nicht um eine einfache Diskrepanz zufolge verschiedenem Verhalten der Gefäße verschiedener Tierarten handeln kann, geht aus den Angaben von Dale und Laidlaw hervor, denn die Gefäße isoliert durchströmter Organe werden durch Histamin sowohl bei Hund und Katze als beim Kaninchen und Meerschweinchen kontrahiert.

Ich unterlasse es, hier eingehend einer Beziehung zwischen der Histaminwirkung und der Gefäßinnervation bzw. Angriffspunkt desselben nachzugehen. Doch will ich bemerken, daß eine scharfe Trennung, wie sie in dieser Hinsicht zwischen Adrenalin und Histamin allgemein üblich ist, indem Adrenalin via Sympathicus, Histamin dagegen auf den Gefäßmuskel direkt wirke, mir nicht statthaft erscheint. Dagegen sprechen die Möglichkeit einer bivalenten Wirkungsweise auf gewisse Gefäße durch Histamin und das gegensinnige Verhalten der Blutgefäße verschiedener

Tierarten in vivo. Mit Sicherheit läßt sich nur soviel sagen, daß Histamin in seiner Wirkungsweise nicht die intimen funktionellen Analogien mit der Sympathikusreizung aufweist wie das Adrenalin. Damit scheint mir aber über den Angriffspunkt weder für die eine noch die andere vasotonisierende Substanz etwas Eindeutiges ausgesagt zu sein.

Pituglandol bzw. Infundibularextrakt von Hoffmann La Roche ergibt die zuverlässigste Wirkung beim Kaninchenohr, während die isolierten Gefäße durch Pituglandol verglichen mit Adrenalin nur wenig erregbar sind; der mit Sicherheit beobachtete Erfolg ist stets eine Kontraktion. Darin unterscheidet sich Pituglandol sowohl gegenüber Adrenalin als Histamin. Übereinstimmend mit Histamin ist die Wirkung des Pituglandols auf die Gefäße des Frosches, und bei den Lungengefäßen des Frosches läßt sich mit Pituglandol der vasodilatatorische und constrictorische Gefäßmechanismus ebensogut nachweisen wie mit Adrenalin und besser als mit Histamin. Da wir bei jedem Hypophysenextrakt mit einem Gemisch von chemisch noch wenig definierten Substanzen arbeiten, deren physiologische Wirkungen auch verschieden sind, so ist das Ergebnis stets die Resultante von verschiedenen Reizen. Es scheint mir nun mehr als gewagt, aus der dem Adrenalin entgegengesetzten Wirkungsweise des Pituglandols auf isolierte Nierenarterien mit Pal[1]) zu schließen, daß Pituglandol über das parasympathische System wirke. Dasselbe gilt für Baehr und Pick[2]), wenn sie behaupten, daß „Hypophysin ausnahmslos dem Adrenalin antagonistische" Wirkungen auf die Gefäße des Frosches habe, und daraus eine Beziehung mit dem Parasympathicus herleiten. Die tabellarische Übersicht meiner diesbezüglichen Resultate überzeugt, daß dem nicht so ist. Ich halte es so lange für verfrüht, über diesen Gegenstand ein sicheres Urteil fällen zu können, als wir nicht wissen, mit wieviel und was für Substanzen wir es in dem Hypophysenextrakte zu tun haben. Die experimentellen Daten in vivo sind in dieser Beziehung gar nicht einheitlicher und es dürfte dieselbe Ursache zugrunde liegen.

Das Lienin, das wirksame Prinzip der Milz hat auf überlebende Gefäße ganz analoge vasotonisierende Wirkungen wie

[1]) Pal, Wien. med. Wochenschr. 1909, Zentralbl. f. Physiol. 23, 253. 1909.

[2]) Baehr und Pick, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 74, 65. 1913.

das Histamin. Die Versuche in vivo haben wohl zufolge des noch unreinen Produktes zu keinen einheitlichen Resultaten geführt, aber es wurde sowohl Blutdrucksenkung als Blutdruckerhöhung beobachtet, also vielleicht auch hier eine Analogie mit Histamin. Ich unterlasse bei der übereinstimmenden Wirkungsweise der beiden Substanzen auf überlebende Gefäße eine weitere Besprechung. Aus dieser Analogie der physiologischen Wirkungsweise soll aber nicht auf eine Identität der chemischen Konstitution geschlossen werden. Darüber wird die chemische Analyse zu entscheiden haben.

Auch die vasotonisierenden Eigenschaften des Blutserums bzw. des defibrinierten Blutes stimmen mit jenen von Histamin und Lienin überein. Im Oxalatblut konnte bisher mit Sicherheit nur Adrenalin nachgewiesen werden, dessen Wirkungsweise wir oben abgehandelt haben.

Schlußfolgerung.

Die Ergebnisse vorliegender Untersuchungen der drei Abhandlungen an überlebenden Gefäßen können, wie folgt, zusammengefaßt werden.

I. Allgemeiner Teil. Die Ergebnisse der Untersuchungen über allgemeine Eigenschaften und deren Leistungsfähigkeit als Testobjekt.

1. Isolierte Gefäßstreifen weisen in Ringerlösung einen selbständigen Tonus auf. Bei der Einstellung eines Gefäßstreifens in den mittleren Tonuszustand sind drei Phasen zu erkennen, a) die Dehnungsphase, b) die Phase der sekundären Retraktion und c) die definitive Phase des mittleren Tonus. Die erforderlichen Versuchsbedingungen für diese Einstellung sind: geeignete Belastung, Körpertemperatur und kontinuierliche Versorgung mit Sauerstoff. Der Sauerstoff muß für isolierte Gefäßstreifen als sehr wirksames tonisierendes Agens betrachtet werden; er kommt im Gegensatz zu den Angaben von Loening in Ringerlösung also bei Ausschluß jeder vasotonisierenden Substanz ebensogut wie in Serum zur Geltung. Der Tonus ist in Ringer geradezu eine Funktion des O_2-Druckes und stellt ein labiles Gleichgewicht dar, ein Plus an O_2 steigert, ein Minus an O_2 erniedrigt den Tonus. Die Einstellung und

die Erhaltung im mittleren Tonuszustand unter ständiger O_2-Versorgung ist für die normale Erregbarkeit und Leistungsfähigkeit von Gefäßstreifen in qualitativer und quantitativer Hinsicht ein unbedingtes Erfordernis.

2. Der mittlere Tonuszustand isolierter Gefäßstreifen ist häufig dadurch charakterisiert, daß mehr oder weniger ausgesprochene rhythmische Schwankungen auftreten. Diese rhythmische Tätigkeit zeigt folgende Merkmale: größte Variabilität in der Form, Frequenz und Amplitude. Die Frequenz ist allgemein sehr träge, die Amplitude erreicht sehr selten einen größeren Verkürzungsgrad als 10% der Länge des Gefäßstreifens. Ausgesprochener Rhythmus bei isolierten Gefäßen und künstlich durchströmten Gefäßen kann auch in reiner mit O_2-gesättigter Ringerlösung beobachtet werden. Tonuserhöhende chemische Agenzien lösen häufig rhythmische Tätigkeit bei überlebenden Gefäßen aus, welche in Ringerlösung keinen Rhythmus zeigen. Tonusherabsetzende Substanzen lösen nie Rhythmus aus und hemmen einen schon bestehenden Rhythmus. Der Sauerstoff hat nicht nur einen günstigen Einfluß, sondern kann wie andere vasoconstrictorische Reize Rhythmus auslösen. Auch kommt die rhythmusauslösende Eigenschaft vasoconstrictorisch wirksamer Reize nur bei genügender O_2-Versorgung gut zur Geltung.

II. Spezieller Teil. Ergebnisse über die spezielle Wirkungsweise vasotonisierender Substanzen auf überlebende Gefäße.

1. Reines peripheres Oxalatblut bzw. Normalblut ist entweder inaktiv oder besitzt eine schwach vasotonisierende Wirkung, welche nur dem Adrenalin eigen sein kann. Wenn Oxalatblut eine andere vasotonisierende Eigenschaft aufweist, so ist dieselbe auf ein Kunstprodukt zurückzuführen, welche mit dem Gerinnungsprozesse im genetischen Zusammenhange steht. Diese vasotonisierende Eigenschaft kommt dann jener des Blutserums gleich.

2. Das Blutserum bzw. das def. Blut hat eine ausschließlich vasoconstrictorische Wirkung auf isolierte Gefäßstreifen, dieselbe darf daher nicht als „adrenalinähnlich" bezeichnet werden, denn gewisse Gefäßstreifen werden durch Adrenalin eindeutig dilatiert. Da diese ausschließlich vasoconstrictorische Eigen-

schaft des Blutserums im reinen Oxalatblut bzw. Normalblute nicht vorkommt und ein an sich inaktives Oxalatblut durch „spontane“ Gerinnung während eines Versuches eine ebenso starke ausschließlich vasoconstrictorische Eigenschaft gewinnt wie das Blutserum, muß diese Substanz als ein Produkt der Gerinnung betrachtet werden. Diese vasoconstrictorische Eigenschaft ist allen Sera mit quantitativen Unterschieden eigen und für diejenigen der untersuchten Tierarten (Rindvieh, Pferd, Schwein, Schaf und Kaninchen) in der Wirkung einheitlich, sie ist nicht spezifisch, thermostabil, dialysierbar und alkohollöslich.

Die „O_2 aktivierende“ Rolle des Blutserums für die Wirkungsmöglichkeit des Sauerstoffes auf isolierte Gefäßstreifen, wie dies Loening annimmt, ist eine müßige Annahme, da der Sauerstoff auch in bloßer Ringerlösung ebensogut zur Wirkung gelangt, im Blutserum aber deutlicher sein kann zufolge der stark vasoconstrictorischen Eigenschaft desselben, welche sich zur tonisierenden Wirkung des Sauerstoffes addiert.

3. A. Adrenalin hat auf die Mehrzahl der untersuchten überlebenden Gefäße verschiedener Organgebiete eine ausschließlich vasoconstrictorische Wirkung; so auf die isolierten Gefäßstreifen der Extremitäten, Mesenterialarterien, Magen- und Milzarterien, sowie auf die Gefäße künstlich durchströmter Extremitäten, Splanchnicusgebiet und Totaldurchströmung beim Frosche, ferner beim Kaninchenohr.

B. Adrenalin vermag anderseits unter gewissen Bedingungen sowohl den vasoconstrictorischen als den vasodilatatorischen Gefäßmechanismus bei demselben Gefäßsubstrate zu erregen, es kann somit eine bivalente Reaktionsweise auslösen. Diese Bedingungen für letztere habe ich vorläufig in drei Gesichtspunkten zusammenfassen können: a) sie tritt nur bei Gefäßen gewisser Organgebiete auf, b) es bestehen diesbezüglich bei verschiedenen Tierarten Unterschiede, c) sie ist abhängig von der Intensität des Adrenalinreizes, indem kleinste und stärkere Dosen eine entgegengesetzte Wirkung ausüben. Isolierte Nierenarterien im proximalen und distalen Abschnitte können durch kleinste Dosen dilatiert, durch stärkere Dosen kontrahiert werden, ebendasselbe treffen wir bei den künstlich durchströmten Lungengefäßen des Frosches an. Während

die Herzkranzarterien vom Typus bovinus durch kleinste Adrenalindosen wahrscheinlich kontrahiert werden können, ist der typische Adrenalineffekt auf stärkere Dosen eine kräftige Erweiterung. Die Herzkranzgefäße vom Typus equinus werden durch Adrenalin in allen wirksamen Dosen ausschließlich kontrahiert. Die Erregbarkeit derselben wurde zwar als ganz normal gefunden; der Verkürzungsgrad erreicht aber, verglichen mit anderen Gefäßen, nur sehr geringe Grade, was eine anatomische Unterlage hat, indem die Muscularis im Verhältnis zur Elastica nur schwach ausgebildet ist. Die Gefäße der Lunge werden durch Adrenalin im Vergleich zu den übrigen Gefäßgebieten des Frosches nur durch stärkere Dosen erregt.

4. β - Imidazolyläthylamin, das Histamin, weist ebenfalls keine einheitliche Wirkungsweise auf die überlebenden Gefäße auf. Isolierte Gefäßstreifen, das Kaninchenohr, die Hinterextremität des Frosches werden ausschließlich vasoconstrictorisch beeinflußt, die Splanchnicusgefäße, die Lungengefäße des Frosches können offenbar durch kleinste Dosen dilatiert, durch stärkere Dosen kontrahiert werden. Diese bivalente Wirkungsweise bzw. die ausschließliche Dilatation ist zwar schwer zu treffen, wurde aber sicher beobachtet. In der Erregbarkeit gegenüber Histamin besteht bei isolierten Gefäßstreifen und dem Kaninchenohr einerseits, den künstlich durchströmten Gefäßgebieten des Frosches anderseits ein wesentlicher Unterschied, die ersteren sind auf Histamin in relativ viel kleineren Dosen, außerdem regelmäßiger erregbar als die letzteren. Ferner können bei den Gefäßen des Frosches innerhalb der untersuchten Dosen absolute Versager auftreten.

5. Pituglandol wirkt auf isolierte Gefäßstreifen, das Kaninchenohr und die Froschhinterextremität, wenn überhaupt, ausschließlich vasoconstrictorisch. Bei künstlicher Durchströmung des ganzen Frosches, sowie bei dessen Splanchnicus- und Lungengefäßen kann durch geringe Dosen eine Dilatation, durch stärkere Dosen eine Kontraktion ausgelöst werden. Diese bivalente Wirkungsweise des Pituglandols ist an den Lungengefäßen am sichersten nachweisbar. Das Kaninchenohr erwies sich aber als das durch Pituglandol am regelmäßigsten beeinflußte Testobjekt.

6. Lienin, ein aktives Prinzip der Milz, verhält sich in seinen vasotonisierenden Eigenschaften ganz analog dem Histamin, sowohl gegenüber isolierten Gefäßstreifen wie dem Kaninchenohr und den künstlich durchströmten Gefäßgebieten des Frosches. Es bestehen auch dieselben Verhältnisse in bezug auf die Erregbarkeit der verschiedenen untersuchten überlebenden Gefäße.

7. Ein ständiger Vergleich der Resultate über die Wirkungsweise der untersuchten vasotonisierenden Substanzen an überlebenden Gefäßen mit jenen in vivo gewonnenen, ergibt keine prinzipiellen Unterschiede. Da, wo Differenzen bestehen, sind die in vivo bisher gemachten Beobachtungen nicht eindeutig.

8. Auf Grund der gewonnenen Resultate an überlebenden Gefäßen wird weiterhin das Problem über die Wirkungsweise vasotonisierender Substanzen und der Innervation der Gefäße bzw. dem Angriffspunkte dieser chemischen Agenzien diskutiert.

Trotz der geübten Vorsicht bei der Bewertung meiner Versuchsergebnisse an überlebenden Gefäßen dürften die einleitend gehegten Hoffnungen nicht getäuscht sein. Im Gegenteil. Bei der überraschenden prinzipiellen Übereinstimmung der Versuchsresultate am überlebenden Organ mit jenen in vivo dürften durch diese Studien unsere Kenntnisse über die allgemeinen Eigenschaften und die Leistungsfähigkeit der Gefäßmuskulatur, über die spezielle Wirkungsweise der untersuchten vasotonisierenden Substanzen, sowie über das Problem des Gefäßmechanismus überhaupt, nicht nur ausgedehnt, sondern auch vertieft worden sein. Diese Resultate an überlebenden Gefäßen zeugen dafür, daß die in vivo beobachteten Erscheinungen an den Gefäßen zum allergrößten Teile der Ausdruck deren selbständigen Funktionen sind.

Berichtigung.

In Band 109 auf Seite 207 ist statt der Tabellenüberschrift

„zu addierender Salzfehler“

zu lesen:

„zu subtrahierender Salzfehler“.



Autorenverzeichnis.

Druck der Spamerschen Buchdruckerei in Leipzig


Digitized by Google

